

HIV-pikatestien testaus ja tulosten vertaaminen rutiinidiagnostiikan testituloksiin

Bioanalytiikan koulutusohjelma,
bioanalyytikko
Opinnäytetyö
16.4.2007

Pauliina Koljonen
Annika Lindqvist



| | | |
|--|-----------|------------------------|
| Koulutusohjelma | | Suuntautumisvaihtoehto |
| Bioanalytiikan koulutusohjelma | | |
| Tekijä/Tekijät | | |
| Pauliina Koljonen ja Annika Lindqvist | | |
| Työn nimi | | |
| HIV-pikatestien testaus ja tulosten vertaaminen rutiinidiagnostiikan testituloksiin. | | |
| Työn laji | Aika | Sivumäärä |
| Opinnäytetyö | 16.4.2007 | 39 + 7 liitettä |
| <p>TIVISTELMÄ</p> <p>Teimme opinnäytetyömme Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin laboratorion eli HUSLABin virologian osastolla hiv- hepatiittityöpiirissä. Työn tavoitteena oli selvittää kuinka luotettavia immunokromatografiset HIV-pikatestit ovat. Testasimme kolmea eri HIV-pikatestiä ja vertasimme niistä saatuja tuloksia virologian osaston rutiinidiagnostiikan tuloksiin.</p> <p>Pikatestit olivat Determine HIV - 1/2 (Abbott), CORE HIV 1&2 (Core Diagnostics) ja IMMUNOFLOW HIV 1-HIV2 (Core Diagnostics). Testasimme 100 seeruminäytettä jokaisella kolmella HIV-pikatestillä. Näytteistä vahvoja positiivisia oli 20, tuoreita tartuntoja 20, väärää reaktiivisia 20 ja negatiivisia 40.</p> <p>Tulosten käsittelyssä käytimme SPSS ja Excel -ohjelmia. Tuloksiemme perusteella kaikkien HIV-pikatestien spesifisyys oli parempi kuin niiden sensitiivisyys.</p> <p>HIV-pikatestit eivät antaneet täysin luotettavia tuloksia. HIV-pikatestit eivät välttämättä havaitse tuoreita infektioita ja tämän takia saattaisi tulla väärää diagnoosia. HIV-pikatestit saattavat myös antaa väärää positiivisia tuloksia. Testin luotettavuus on hyvä, jos testataan pitkälle edenneitä HIV-infektioita, joissa vasta-aineet ovat korkeita. Tulosten perusteella rutiinidiagnostiikan testeillä HIV-infektio saadaan paremmin diagnosoitua kuin HIV-pikatesteillä. Suomessa ei mielestämme ole tarpeellista käyttää HIV-pikatestejä, sillä laboratoriotekniikka on hyvin kehittynyttä ja välimatkat lyhyitä. Suuren HIV-prevalenssin maissa HIV-pikatestit olisivat mielestämme hyödyllisiä, jotta mahdollisimman moni saataisiin testattua.</p> | | |
| Avainsanat | | |
| HIV, pikatestit, vasta-aineet, immunokromatografia | | |



| | | |
|---|-------------|----------------------------------|
| Degree Programme in | | Degree |
| Biomedical Laboratory Science | | Bachelor of Health Care Services |
| Author/Authors | | |
| Annika Lindqvist and Pauliina Koljonen | | |
| Title | | |
| Comparison of three HIV Rapid Tests Results with Routine HIV-test results. | | |
| Type of Work | Date | Pages |
| Final Project | Spring 2007 | 39 + 7 appendices |
| <p>ABSTRACT</p> <p>We accomplished our final project at the Department of Virology of HUSLAB - Central Laboratory of Helsinki and Uusimaa Hospital District. Our aim was to study reliability of immunocromatographic HIV rapid tests. We tested three different HIV Rapid Tests and compared the results with those given by the immunochemical methods routinely used at the department of virology.</p> <p>The rapid tests we studied were Determine HIV-1/2 (Abbott), CORE HIV 1&2 (Core Diagnostics) and IMMUNOFLOW HIV1-HIV2 (Core diagnostics). We tested 100 samples with all three rapid tests. 20 of these samples were high HIV-antibody positive, 20 low antibody positive at seroconversion phase, 20 false positive and 40 HIV-negative.</p> <p>Statistical analyses were carried out with SPSS and Excel -statistical softwareprogrammes. According to our results the specificity of all rapid tests was much better than the sensitivity and positive predictive values of all rapid tests.</p> <p>According to our results the reliability of HIV-rapid tests is not good enough for common use to detect HIV infection in Finland. Our opinion is that the use of HIV rapid tests might be suitable in areas with high HIV prevalence, such as in developing countries, and when testing people who have high risk to have HIV-infection. A false positive result may cause serious distress for tested person and therefore we recommend to use more reliable immunochemical methods to detect HIV in developed countries.</p> | | |
| Keywords | | |
| HIV, antibody, rapid assay/ test, immunochromatography | | |

SISÄLLYS

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | JOHDANTO | 1 |
| 2 | HI-VIRUS | 2 |
| 2.1 | HI-viruksen rakenne | 3 |
| 2.2 | HI-virustartuntatavat | 4 |
| 2.3 | HI-viruksen pääsy isäntäsoluun | 5 |
| 2.4 | HI-virustartunnan taudinkulku ja oireet | 6 |
| 3 | HI-VIRUKSEN DIAGNOSOINTI TAVANOMAISILLA LABORATORIOMENETELMILLÄ HUSLABISSA | 8 |
| 3.1 | HIV-laboratoriodiagnostiikka | 8 |
| 3.2 | HUSLABin rutiinidiagnostiikka | 10 |
| 3.2.1 | Antigeeni ja vasta-aineet, yhdistelmä tutkimus | 11 |
| 3.2.2 | Vasta-aine, varmistustesti | 11 |
| 3.2.3 | Antigeenimääritykset | 12 |
| 3.2.4 | HIV-RNA määrittäminen | 12 |
| 4 | HIV-PIKATESTIT | 13 |
| 4.1 | HIV-pikatestien hyötyjä | 15 |
| 4.2 | HIV-pikatestien haittoja | 15 |
| 4.3 | Pikatestien menetelmäperiaatteet | 16 |
| 4.3.1 | Determine® HIV-1/2 | 17 |
| 4.3.2 | Core® HIV 1&2 | 17 |
| 4.3.3 | Immunoflow® HIV1-HIV2 | 18 |
| 4.4 | Pikatestien työohjeet | 18 |
| 4.4.1 | Determine® HIV-1/2 | 19 |
| 4.4.2 | Core® HIV 1&2 | 20 |
| 4.4.3 | Immunoflow® HIV1-HIV2 | 21 |
| 4.5 | Pikatestien luotettavuus | 22 |
| 5 | AIKAISEMPIA TUTKIMUKSIA HIV-PIKATESTEISTÄ | 23 |
| 6 | TYÖN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT | 25 |
| 7 | TUTKIMUSAINESTO JA TYÖN SUORITUS | 25 |
| 8 | TUTKIMUSTULOKSET | 26 |
| 9 | JOHTOPÄÄTÖKSET JA TESTIEN VERTAILU | 28 |
| 9.1 | Pikatestien käyttökelpoisuus | 30 |
| 9.2 | Poikkeavat pikatestitulokset | 31 |
| 9.3 | Tulosten luotettavuus | 31 |
| 10 | POHDINTA | 32 |
| 11 | LÄHTEET | 36 |

LIITTEET

1 JOHDANTO

HI-virus (Human Immunodeficiency Virus, HIV) eli ihmisen immuunikatovirus kuvattiin vuonna 1984. HI-viruksen aiheuttama ihmisen immuunikatotauti eli AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) määritettiin jo vuonna 1981 ja siihen tiedetään kuolleen 50 miljoonaa ihmistä maailmassa. Tällä hetkellä maailmassa on todettu olevan jo noin 40 miljoonaa HI-viruksen kantajaa. Vuonna 2006 tuoreen HI-virustartunnan sai 4,3 miljoonaa ihmistä ja AIDSiin kuoli 3 miljoonaa ihmistä. Kansanterveyslaitoksen vuoden 2007 alussa julkaiseman raportin mukaan Suomessa on HIV-tartuntoja todettu yhteensä 2130 ja AIDSiin on kuollut 429 ihmistä. HIV-infektioiden määrä nousee jatkuvasti. (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS 2006: 1–3; Kansanterveyslaitos 2007b; Kansanterveyslaitos 2007c; Stevens 2003: 346–347.)

HIV-tartuntojen leviämisen estämiseksi tulisi HI-viruksen kantajien saada tietää tartunnastaan. Useat HIV-infektion saaneet tulevat testatuksi usein vasta infektion myöhäisvaiheessa. Kehittyvissä maissa monet testatut eivät tule lainkaan kuulemaan testituloksiaan, jos siihen tarvitaan uusintakäynti. Tavanomaisilla menetelmillä, kuten analyysointilaitteilla tehtävillä määrityksillä, HIV-tuloksia ei saa kovin pian ja usein näyte kuljetetaan näytteenottoa paikalta muualle tutkittavaksi. Kehitysmaissa testatuilla ei puolestaan ole välttämättä mahdollisuutta kulkea uudestaan pitkän matkan takaa uusintakäynnille. Yhdysvaltojen tartuntatautien valvonta- ja ehkäisykeskuksen eli CDC:n (Centers for Disease Control) mukaan vuonna 2000 jopa 31 % testatuista HIV-positiivisista jätti kuulematta HIV tuloksensa. HIV-pikatestien kehittäminen tuo uuden mahdollisuuden identifioida HIV-infektion saaneet ja aloittaa hoito ajoissa. Tällä on suuri merkitys HIV-tartuntojen leviämisen ehkäisemisessä. (Centers for Disease Control 2003: 329–332.)

Suomessa HIV-pikatestejä käytetään muun muassa vankiloissa ja AIDS-tukikeskuksessa. Kansanterveyslaitos on kiinnostunut HIV-pikatestien toimivuudesta ja luotettavuudesta, sillä ne voisivat olla mahdollisesti hyödyllisiä esimerkiksi poliklinikoilla. Pikatesteillä tulos saadaan nopeasti ja vaivattomasti, mutta pikatestien käyttöönottoa on myös kritisoitu, koska niiden tuloksia ei pidetä yhtä luotettavina kuin analyysointilaitteilla saatuja tuloksia. (Leinikki 1998: 11–12.)

Teemme opinnäytetyömme Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin laboratorion eli HUSLABin virologian osastolla HIV-hepatiitti-työpisteessä. Testaamme kolmea eri HIV-pikatestiä sadalla näytteellä. Näytteiden joukossa on sekä positiivisia että negatiivisia näytteitä. Vertaamme pikatestien tuloksia HUSLABin virologian osaston tavanomaisilla laboratoriomenetelmillä saatuihin tuloksiin. Tämän tutkimuksen tulosten perusteella pohdimme, kuinka luotettavia HIV-pikatestit ovat. Kerromme opinnäytetyömme teoriaosassa luvussa 2 HI-viruksista. Luvussa 3 keskitymme HI-virusdiagnosoinnin tavanomaisiin laboratoriomenetelmiin HUSLABissa ja luvussa 4 tarkemmin HIV-pikatesteihin. Luvussa 5 kerromme HIV-pikatesteihin liittyvistä tutkimuksista. Loppuosa työstä liittyy pääosin opinnäytetyömme empiiriseen tutkimusvaiheeseen ja tulosten käsittelyyn sekä pohdintaan.

Opinnäytetyömme tulokset menevät muun muassa HUSLABin tietopankkiin. Tuloksia voivat ulkopuolisista hyödyntää kaikki, jotka lukevat tämän opinnäytetyön tai ovat yhteydessä esimerkiksi virologian osaston asiantuntijalääkäreihin. Työn tulokset herättävät mahdollisesti keskustelua muidenkin asiantuntijoiden kesken. Opinnäytetyöstämme voi myös saada uusia näkökulmia pikatestien toimivuudesta ja käytännöllisyydestä, varsinkin siitä, mihin asioihin kannattaa kiinnittää huomiota, jos harkitsee pikatestien käyttöönottoa johonkin terveydenhuollon toimipisteeseen.

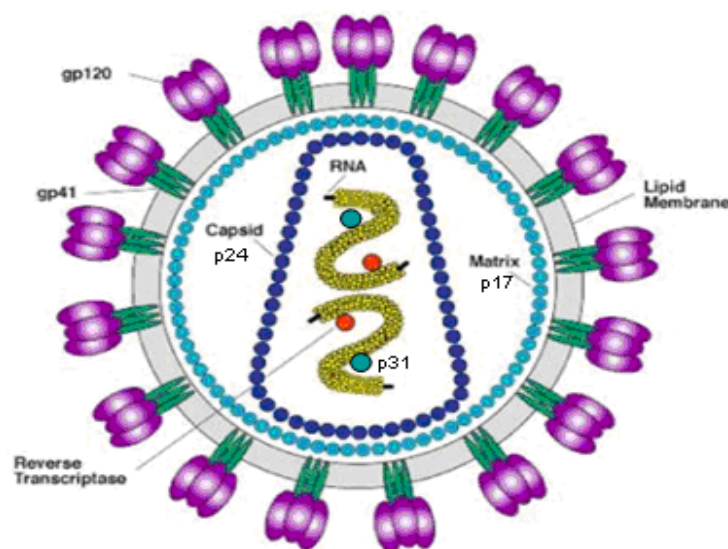
2 HI-VIRUS

HI-virus on retrovirus, joka kuuluu lentivirusten heimoon. HI-viruksesta on olemassa erilaisia muotoja, kuten HIV-1 ja HIV-2. HIV-1 aiheuttaa 99 % kaikista HIV- ja AIDS-tautitapauksista. HIV-2 johtaa AIDSiin yleensä paljon hitaammin, kuin HIV-1. Nämä kaksi virustyyppiä eroavat toisistaan geneettisesti noin 40–50 %. HI-viruksella 1 on genotyypit M, N ja O sekä M genotyypillä alatyypit A-K. Alatyypit A-K eroavat geenisekvenssivertailussa noin 15–30 %. Alatyyppien lisäksi tunnetaan niin sanottuja yhdistelmä- eli rekombinanttimuotoja, jotka syntyvät HIV-1-alatyyppien vaihtaessa keskenään ”puhtaita” geenejä. Geenejä vaihtamalla virus pystyy muuntautumaan nopeammin kuin pelkästään mutaatioiden kautta. Teoriassa on mahdollista, että tämä ominaisuus nopeuttaa viruksen sopeutumista uudenlaisiin olosuhteisiin. (Stevens 2003: 347; Kansanterveyslaitos 2004.)

HIV-infektioita tavataan kaikkialla maailmassa. Viime aikoina Aasiassa, Venäjällä ja Ukrainassa tartunnan leviäminen on oletettavasti ollut nopeinta. Alatyypien esiintyvyys vaihtelee maanosien mukaan. Maailman HIV-epidemiaa hallitsee HIV-1:n M-genotyyppi. Itä-Euroopassa tavallisin HIV-1-alatyyppi on muotoa A, kun taas Pohjois-Amerikassa alatyyppi B on vallitsevin. 1980-luvulla alatyyppi B siirtyi Pohjois-Amerikasta useimpiin Euroopan maihin. Aasian maista Intiassa ja Kiinassa esiintyy alatyyppiä C, mutta Kaakkois-Aasiassa yleisin on rekombinanttimuoto AE. Tämä AE-muoto on myös 1998 Suomessa suonensisäisten huumeidenkäyttäjien keskuudessa puhjenneen HIV-epidemian aiheuttaja ja sen epäillään olevan peräisin yhdestä tartuttajasta. (Kansanterveyslaitos 2004; Huovinen ym. 2005: 561–562.)

2.1 HI-viruksen rakenne

HIV-1 ja HIV-2 ovat vaipallisia retrovirsuksia. Ne ovat muodoltaan pyöreähköjä kappaleita, joiden halkaisija on noin 100 nanometriä (nm). Vertailuna kerrottakoon, että stafylokokkibakteerin halkaisija on noin 1000nm ja ihmissolun keskimäärin 15 000nm. Retroviruksissa on nukleiinihappona RNA:ta (ribonukleiinihappo) DNA:n (deoksiribonukleiinihappo) sijasta. HI-viruksen rakenne on muodostunut useasta proteiinista (KUVIO 1). (Bjälle – Haug – Sand – Sjaastad 1999: 292; Stevens 2003: 347.)



KUVIO 1. HI-viruksen rakenne ja viruksen tärkeimpiä proteiineja. (Suni 2006.)

Elektronimikroskoopilla tarkasteltaessa HI-viruksen pinnalla erottuu nuppimaisina ulokkeina proteiinit gp41 ja gp120. Gp41 läpäisee lipidikalvon, mutta tähän proteiiniin sitoutunut gp120 sijaitsee kokonaan vaipan ulkopuolella. Nämä proteiinit auttavat virusta tunkeutumaan soluun (katso kohta 2.3). Viruksen ulkoseinän eli vaipan muodostaa p17- matriksiproteiini (Matrix). Virukselle tärkeää ulkoseinää ympäröi lisäksi isäntäsolusta viruksen lisääntymisvaiheessa eli sen solusta poistuessaan mukaan tarttunut lipidikalvo. (Lipid Membrane). Vaipan sisällä on kartion mallinen ydin, jota sanotaan kapsidiksi (Capsid). Kapsidi on muodostunut p24-proteiinista ja se suojaa viruksen genomia. HI-viruksen genomi koostuu kahdesta samanlaisesta yksisäikeisestä positiivisesta RNA-nauhasta. HI-viruksen käänteiskopioijaentsyymi (Reverse Transcriptase) muuttaa viruksen RNA:n DNA:ksi viruksen tunkeuduttua soluun. Proteiini p31-integraasi on käänteiskopioijaentsyymin alayksikkö. (Huovinen ym. 2005: 564–565; Stevens 2003: 347–348.)

2.2 HI-virustartuntatavat

HIV-tartunnan voi saada suojaamattomassa sukupuoliyhteydessä, veren välityksellä tai äidistä lapseen. Suomessa vuonna 2006 tartunnoista 31 % saatiin homoseksin ja 47 % heteroseksin välityksellä. Äidistä lapseen veren välityksellä tapahtuvia tartuntoja oli 1 %. Iv-huumeiden (intravenous, suonensisäinen) välityksellä tartunnan sai 5 %. (Duodecim 2002: 266). Tartuntatavasta ei ollut tietoa 16 % tapauksista. Yleisesti ottaen HIV ei ole herkästi tarttuva, vaikka sitä onkin eristetty lähes kaikista ihmiselimistön eritteistä, nesteistä ja kudoksista. (Kansanterveyslaitos 2007b; Leinikki – Löytönen 1993: 35.)

Suurin osa tartunnoista saadaan seksin välityksellä. Virusta on sekä siemennesteessä että emättimen eritteessä. Rikkinäiset limakalvot lisäävät riskiä saada tartunta. Anaalinyhdyntä on emätinyhdyntää riskialttiimpana, sillä peräsuolen limakalvo rikkoutuu helpommin. HIV voi tarttua myös suuseksin välityksellä, tosin riski on olennaisesti pienempi yhdyntään verrattuna. Suudelman välityksellä saatuja tartuntoja ei ole todettu, vaikka virus onkin todennettavissa syljestä. (Janeway – Travers – Walport – Capra 1999: 441–442; Leinikki ym. 1993: 36–38.)

Suurin osa veren välityksellä tapahtuvista tartunnoista saadaan käytettäessä saastunutta verta sisältäviä neuloja tai ruiskuja. Tartunnan voi saada myös verensiirtojen tai elinsiirtojen yhteydessä. Verensiirtojen välityksellä tapahtuvat tartunnat ovat kuitenkin harvinaisia maissa, joissa luovutusverien kontrolli (verensiirtotoiminnan turvallisuuden takaamiseksi järjestetty veriturvatoiminta) on järjestetty, kuten Suomessa. Tartunnan voi saada työtapaturman seurauksena esimerkiksi neulanpisto-onnettomuuden tai leikkauksen yhteydessä. (Huovinen ym. 2005: 561, 896; Stevens 2003: 347.)

Tartunta äidistä lapseen voi tapahtua joko raskauden aikana, synnytyksen yhteydessä tai lapsen syntymän jälkeen imetyksen yhteydessä. HIV-positiivisen äidin lääkitys suojaa lasta melko hyvin tartunnalta. Tehokas HIV-lääkehoito laskee sikiön ja vastasyntyneen tartuntariskin jopa alle 1 %:iin. (Stevens 2003: 347; Syrjänen – Ristola 2005: 4987.)

2.3 HI-viruksen pääsy isäntäsoluun

HIV-tartunnan jälkeen HI-virusta on sekä valkosoluissa että vapaana veressä. HI-virus tarvitsee isäntäsolujen pinnalla olevia CD4-molekyylireseptoreja päästäkseen soluun. Näitä reseptoreja on erityisesti valkosoluissa, kuten auttaja-T-soluissa, makrofageissa ja dendriittisten solujen pinnalla. CD4-positiiviset T-lymfosyytit (auttaja-T-solut) ovat merkittävimpiä HI-viruksen kohdesoluja. HI-virus sitoutuu gp120-vaippaproteiinillaan kiinni CD4- reseptoriin, jonka jälkeen viruksen gp120-proteiinin rakenne muuttuu ja se reagoi solun kemokiinireseptorien kanssa. Kemokiini on pienimolekyylinen aine, joka houkuttelee valkosoluja. Kun nämä reseptorit ovat aktivoituneena tuhotakseen fagosytoimalla eli syömällä kehon vihollisen, käyttää HI-virus tilannetta hyödykseen. Tämän tapahtumaketjun seurauksena HI-viruksen gp41-glykoproteiini pääsee käynnistämään kohdesolun eli isäntäsolun ulkokalvon ja viruksen vaipan fuusion, jolloin virus pääsee soluun lisääntymään. (Duodecim 2002: 291; Huovinen ym. 2005: 566.)

HI-viruksen genomin käänteiskopiointi käynnistyy heti viruksen tunkeuduttua soluun. Käänteiskopioinnin seurauksena DNA-muotoinen HI-viruksen genomi voi käyttää hyväkseen solun sisäisiä kuljetusmekanismeja, joka auttaa viruksen genomia pääsemään suoraan solun tumaan. Tästä syystä HIV-infektio on riippumaton mitosisissa tapahtuvasta tumakalvon hajoamisesta. Tämä ominaisuus erottaa HIV:n ja muut

lentivirukset yksinkertaisemmista retroviruksista. Tällä on merkitystä AIDSin patogeneesissa eli taudin synnyssä ja kehityksessä. (Duodecim 2002: 503; Huovinen ym. 2005: 567.)

2.4 HI-virustartunnan taudinkulku ja oireet

Arviolta 50–70 % saa sairauden ensioireita 3-6 viikon kuluttua tartunnasta. Ensioireet muistuttavat paljon tavallisen flunssan tai mononukleosisin yhteydessä ilmeneviä oireita (mm. kuume, suurentuneet imusolmukkeet ja ripuli). Oireet häviävät yleensä muutaman viikon kuluessa. (Stevens 2003: 351.)

Primaari-infektion aikana virusmäärät ovat verenkierrossa suuret ja potilas on huomattavan tartuttava. Tämän jälkeen alkaa pitkään kestävä oireeton tai vähäoireinen jakso. Tässä vaiheessa suurin osa HIV-infektoituneista soluista siirtyy imukudokseen. Infektio luokitellaan LAS-vaiheeseen (Lymph Adenopathy Syndrome), kun imusolmukkeet ovat olleet turvonneina yli kahden kuukauden ajan. Tässä vaiheessa tartunnan saanut tuntee vointinsa hyväksi ja oireettomaksi. Tilanne voi pysyä vakaana vuosien ajan eikä potilaalle kehity mitään taudille ominaisia oireita, jotka viittaisivat HIV- infektiin. Ainoastaan vasta-ainetestit paljastaa tartunnan. Tässä vaiheessa voidaan käyttää myös HIV:n RNA:n osoitusta tartunnan osoittamiseksi (KUVIO 2). (Huovinen ym. 2005: 573; Positiiviset.fi; Reunala – Paavonen – Rostila 1994: 112–113; Stevens 2003: 351.)

Immuunipuolustuksen heiketessä alkaa ilmaantua erilaisia iho- ja limakalvo-oireita elimistön kohdatessa mikrobeja. Nämä oireet yleistyvät LAS- vaiheen loppupuolella. Tässä vaiheessa ei yleisissä laboratoriokokeissa löydetä mitään poikkeavaa. T- auttajasolujen määrä on joko normaali tai lievästi alentunut. HIV- infektion edetessä imusolmukkeet pienentyvät vähitellen ja niistä vapautuu HI- viruksia verenkiertoon. Potilaalle alkaa kehittyä erilaisia oireita, kuten laihtuminen ja kuumeilu. Taudin kliininen luokitus on ARC (Aids Related Complex), jossa oireet ovat jo selviä. Tämä vaihe kestää 1-3 vuotta, jolloin potilaan tartuttavuus lisääntyy. Auttaja-T-solujen määrä on vähentynyt huomattavasti, jolloin tulehdusta kuvaavat laboratorioarvot lasko ja CRP alkavat kohota. (Positiiviset.fi; Reunala ym. 1994: 113–115.)

HIV-infektio on edennyt AIDS-vaiheeseen, kun potilaan yleisoireiden syyksi löytyy jokin määritelmän mukaisista opportunisti- infektioista tai kasvaimista. Opportunisti-infektion aiheuttaa mikrobi, joka ei normaalisti ole taudinaiheuttaja, mutta immuunipuolustuksen heikennyttyä mikrobi aiheuttaa taudin oireita. Suomessa yksi tavallisimmista opportunisti-infektioista on *Pneumocystis carinii*-organismin aiheuttama keuhkokuume (*Pneumocystis carinii* pneumonia, PCP). Suomessa hoidetuilla HIV-potilailla on myös todettu tuberkuloosia, jonka aiheuttaa *Mycobacterium tuberculosis*-bakteeri. Näiden infektioiden hoito on nykyään tehokasta. (Huovinen ym. 2005: 578; Janeway ym. 1999: 424; Reunala ym. 1994: 115.)

Tällä hetkellä ei tiedetä, sairastuvatko kaikki tartunnan saaneet jossain vaiheessa AIDSiin. Ilman hoitoa taudin kesto HIV-tartunnasta AIDS-vaiheeseen voi olla lyhimmillään vuoden pituinen, mutta noin puolella siihen menee keskimäärin 10 vuotta. Tartunnasta 12,5 vuoden kuluttua jopa 69 % on hoitamattomana sairastunut AIDSiin. Keskimääräinen elin aika AIDS- diagnoosista kuolemaan on yleensä kahdesta kolmeen vuotta. (Reunala ym. 1994: 116.)

HIV-infektioon ei ole olemassa lopullisesti parantavaa hoitoa. HIV-tartunnan hoitomenetelmät ja taudinkulku ovat länsimaissa muuttuneet suuresti viimeisen kymmenen vuoden aikana. Antiretroviraalisilla lääkkeillä, joita on nykyään käytettävissä yli 20, ja niiden yhdistelmillä pystytään tehokkaasti estämään tai hidastamaan viruksen lisääntymistä. Varhain tehdyllä diagnoosilla on keskeinen merkitys, sillä aikaisin aloitettu hoito vaikuttaa merkittävästi elin aikaan. Suomessa HIV-infektio diagnosoidaan vieläkin usein liian myöhään. Viime vuosina joka neljäs tartunnan saanut oli infektion todettaessa jo AIDS-vaiheessa. (Janeway ym. 1999: 448–450; Rintala – Sutinen 2005: 4977.)

Lääkehoidot ovat pidentäneet tartunnansaaneiden eliniänodotetta lähes ”normaalitasolle” ja vuosittain AIDS-vaiheeseen sairastuneiden määrä on vähentynyt minimiin. Nykyisin HIV-infektion hoidossa käytetään 3–4 lääkkeen yhdistelmähoitoa. HIV-infektion hoito on HAART-hoidon (Highly Active Antiretroviral Therapy) lisäksi mm. lääkehoitoon liittyvien sivuvaikutusten, opportunististen infektioiden ja potilaan muiden mahdollisten sairauksien hoitoa. HIV-rokotteen kehittämisessä ei ole onnistuttu,

koska virus on hyvin muuntautumiskykyinen. (HIV-säätiö/ AIDS tukikeskus 2007; Janeway ym. 1999: 452; Syrjänen ym. 2005: 4981.)

3 HI-VIRUKSEN DIAGNOSOINTI TAVANOMAISILLA LABORATORIOMENETELMILLÄ HUSLABISSA

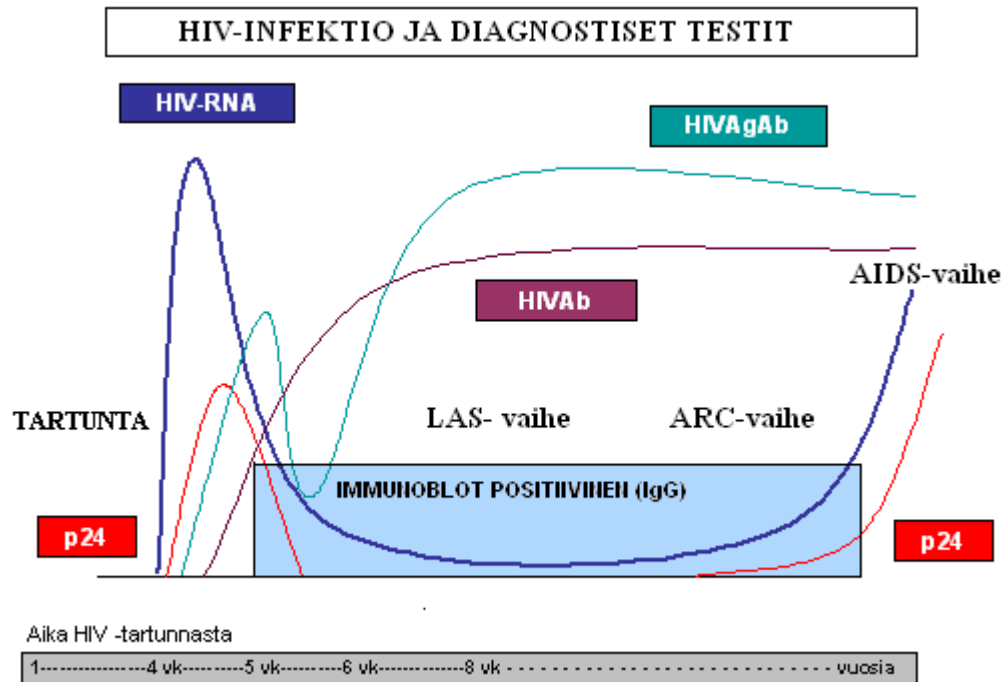
HI-viruksen laboratoriodiagnostiikan perustana ovat HI-virusvasta-ainemääritykset, HIV p24-antigeenimääritys ja HIV-RNAn kvantitaatio. HUSLABin HIV-diagnostiikan tavanomaisista laboratoriomenetelmistä käytetään yleisesti myös nimitystä rutiinimenetelmät tai rutiinidiagnostiikka. (Suni 2007.) HUSLABin klinisen mikrobiologian laboratorio on akkreditoitu eli FINAS (Finnish Accreditation Service) on todennut laboratorion päteväksi. Akkreditoinnin avulla laboratorio voi osoittaa puolueettomasti todetun pätevyytensä ja tulostensa luotettavuuden. HI-viruksen vasta-aine ja varmistustutkimukset seerumista (S-HIVAb, S-HIVAbCt), sekä HI-viruksen kvantitatiivinen nukleinihappomääritys plasmasta (P-HIV1Nh) kuuluvat akkreditoinnin pätevyysalueelle. (Finnish Accreditation Service; Finnish Accreditation Service 2007.) HUSLABissa rutiinidiagnostiikka perustuu kuvioden 2 ja 3 mukaisiin taulukoihin. (Suni 2007).

3.1 HIV-laboratoriodiagnostiikka

Tartunnan seurauksena verenkiertoon ilmaantuu ensimmäisenä infektoiva HI-virus ja sen virus-RNA, jonka jälkeen ilmaantuu HIV-DNA ja viruksen p24-antigeeni. (KUVIO 2.) Virus-RNA voidaan havaita muutaman päivän kuluttua tartunnasta ja pian tämän jälkeen ne nousevat erittäin korkealle tasolle. Seuraavaksi virus alkaa lisääntyä, jonka seurauksena voidaan havaita viruksen p24-antigeeni seerumissa. Antigeeni p24 voidaan havaita seerumissa vain muutaman viikon ajan tartunnasta. (Huovinen ym. 2005: 573; Kuby 1997: 536; Stevens 2003: 360.)

HIV-infektion diagnosointi perustuu kuitenkin yleensä HI-viruksen vasta-aineiden havaitsemiseen. Vasta-ainetesteihin perustuvista menetelmistä käytetään yleisesti nimikettä serologia. Serologiset menetelmät luokitellaan seulonta- ja varmistustesteihin. Seulontatesti on ensimmäinen testi, joka erottelee mahdolliset positiiviset näytteet

negatiivisista. Vasta-aineet eli immunoglobuliinit ilmestyvät vereen vasta muutaman viikon kuluttua HIV-infektiosta. Ensin voidaan havaita immunoglobuliini M (IgM) ja sen määrän laskiessa voidaan havaita immunoglobuliini G:n (IgG) nousu. Kuviossa 2 HIV-vasta-aineiden määrä on kuvattu HIVAb-käyränä. (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS 2004: 2; Kuby 1997: 536.)



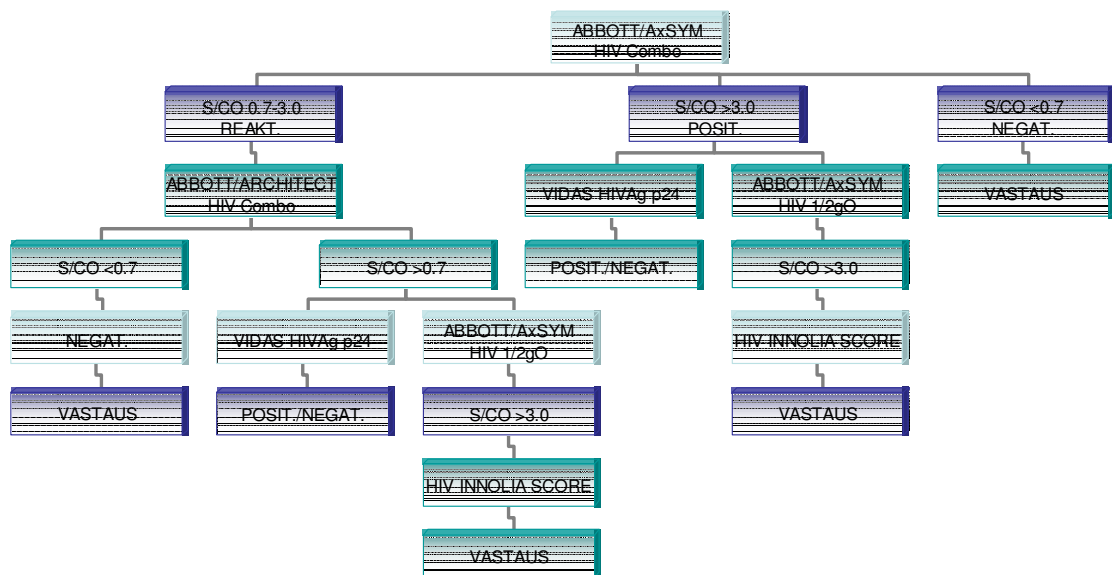
KUVIO 2. HIV-infektion diagnostiset testit ja tutkittavien analyyttien semikvantitatiivinen määrä seerumissa HIV-infektion ajallista etenemistä seuraten. Taulukossa on lisäksi HIV-tartunnan tautivaiheet kuvattuna. (Suni 2007.)

HI-viruksen viljeleminen ja alalajityypitys sekä lääkeresistenssimääritykset (mikrobin vastustuskyky mikrobilääkettä kohtaan) ovat muita HIV-diagnosointiin käytettäviä menetelmiä. (Duodecim 2002: 400). Virusviljely lopetettiin HUSLABissa vuoden 2007 alussa. Sitä käytettiin diagnostisesti epäiltäessä uutta HI-viruksen varianttia eli uutta virustyyppiä tai selvittäessä ristiriitaisia tuloksia, mutta nukleiinihappo-osoitusmenetelmät ovat syrjäyttäneet viljelyn kokonaan. Kansanterveyslaitoksella käytetään epidemiologiseen tutkimukseen liittyen viruksen alalajityypitystä. Tyypitys tehdään sekvensoinnin eli viruksen perimän emäsjärjestyksen määrittämisen avulla. (Duodecim 2002: 595). Myös HIV-lääkeresistenssin määrittäminen tehdään Kansanterveyslaitoksen (KTL) HIV-laboratoriossa. Tutkimus tehdään ennen lääkehoidon aloitusta ja jos viruksen kopiomäärät lähtevät hoidon aikana yllättävään kasvuun. (Huovinen 2005: 574; Suni 2007.)

3.2 HUSLABin rutiinidiagnostiikka

Kuvio 3 kuvaa HUSLABin rutiinidiagnostiikan seulonta- ja varmistusmenetelmiä. Seulontamenetelmänä käytetään Abbott-laittevalmistajan AxSYM-HIV Combo -yhdistelmätestiä (HIVAgAb), joka paljastaa näytteessä (seerumi tai plasma) mahdollisesti olevat HIV-vasta-aineet (HIVAb) sekä HI-viruksen p24 pinta-antigeenin. Seulontatestillä tullut negatiivinen tulos, $<0,7$ S/CO (Signal per Cutoff), annetaan lausuttavaksi klinikolle, joka antaa lausunnon hoitavalle lääkärille. (HUSLAB 2006b: 1–3.)

HUSLABIN VIROLOGIAN OSASTON HIV-DIAGNOSOINNISSA KÄYTETYT RUTIINIMENETELMÄT



KUVIO 3. HUSLABin virologian osaston HI-viruksen rutiinidiagnostiikan seulonta- ja varmistusmenetelmät. (Suni 2007.)

Kuvio 3:ssa reaktiivisilla näytteillä tarkoitetaan matalia positiivisia tuloksia ($0,7-3,0$ S/CO). Reaktiivisilla näytteillä voidaan tarkoittaa joissain yhteyksissä kaikkia (sekä matalia että korkeita) positiivisia tuloksia. Näistä reaktiivisista näytteistä tehdään Abbott/ARCHITECT HIV Combo -varmistustutkimus. Positiivisista (>3 S/CO) tuloksista tehdään p24-antigeenin osoitus VIDAS-laitteella ja vasta-ainetutkimus HIV1/2 gO Abbott/AxSYM-laitteella. Mikäli kahdella eri testillä saadaan positiivinen tulos, vastataan näyte positiivisena. Positiivinen tulos merkitsee sitä, että potilas on saanut HIV-tartunnan tai että hänellä on veressään äidiltään peräisin olevia vasta-aineita. (HUSLAB 2006a: 3.)

3.2.1 Antigeeni ja vasta-aineet, yhdistelmätutkimus

Abbott/AxSYM HIV Combo -tutkimus (HIVAgAb) perustuu mikropartikkeli-entsyymi-immunomenetelmään (MEIA, Microparticle Enzyme Immunoassay). Menetelmä havaitsee näytteen mahdollisesti sisältämät HIV-1:n M-O-ryhmät ja/tai HIV-2-vasta-aineet sekä HIV p24-antigeenin. Menetelmä ei erottele toisistaan mahdollisia HIV-1 ja HIV-2 vasta-aineita eikä myöskään HIV p24-antigeenia. (HIV 2006b: 1.)

Negatiivinen tulos on $<0,70$ S/CO, matala reaktiivinen $0,7-3,00$ S/CO ja reaktiivinen $>3,00$ S/CO. Mikäli tulos on reaktiivinen eikä vanhaa positiivista tulosta ole tiedossa, tehdään ABBOTT /ARCHITECT HIV Combo -varmistustutkimus (HIVAgAb). Mikäli tulos on yhä reaktiivinen, tehdään jatkotutkimuksena ABBOTT/AxSYM HIV $\frac{1}{2}$ gO- ja Vidas HIV- p24-määritys. Negatiivinen HIVAgAb-tulos ei poissulje HIV-tartunnan mahdollisuutta, sillä tuoreessa infektiossa vasta-aineita tai p24-antigeenia ei ole välttämättä muodostunut riittävästi testillä havaittavaksi. Taulukon 2 notkahdus HIVAgAb- käyrässä saattaa kestää 2–5 päivää, joka johtuu vasta-aineiden ja p24-antigeenin muodostamasta yhdistelmästä eli immunokompleksista veressä. Immunokompleksi saattaa aiheuttaa väärän negatiivisen tuloksen. Tutkimus voi antaa vääriä positiivisia tuloksia, mutta harvemmin vääriä negatiivisia tuloksia. (HUSLAB 2006a: 1–3).

3.2.2 Vasta-aine, varmistustesti

ABBOTT/AxSYM HIV $\frac{1}{2}$ gO -vasta-ainetestä (HIVAb) käytetään havaitsemaan näytteestä HIV-1- ja HIV-2-vasta-aineet. Vasta-ainemääritys perustuu MEIA-menetelmään. Negatiivinen tulos on $<0,70$ S/CO, raja-arvoinen (Cutoff) $0,70-0,99$, matala reaktiivinen $1,00-3,00$ ja korkea reaktiivinen $>3,00$. Reaktiivinen tulos varmistetaan Immunoblot-testillä (KUVIO 3; HIV INNOLIA SCORE). (HUSLAB 2006a: 1–3.)

Immunoblot-testi perustuu epäsuoraan EIA:n (Enzyme Immunoassay), jossa yhdistelmä-DNA -tekniikan avulla tuotettuja tai synteettisten peptidien HIV-1- ja HIV-2-antigeneja on kiinnitetty testiliuskaan. Näytteen mahdollisesti sisältämät HIV-vasta-aineet kiinnittyvät liuskoilla oleviin antigeeniivivoihin ja tulokseksi ilmestyy värillinen

viiva vasta-aine/antigeeni-kompleksin kohdalle entsyymireaktion seurauksena. Testiliuskalle ilmaantuneiden viivojen perusteella voidaan päätellä onko kyseessä HIV-1 vai HIV-2 vasta-aineet. (HUSLAB 2006a: 1–2.)

3.2.3 Antigeenimääritykset

HIV-antigeenin määrittäminen menetelmä, VIDAS HIVAg p24 tehdään VIDAS-analysaattorilla ja se tehdään kolmantena jatkotutkimuksena. Testi määrittää kvantitatiivisesti HIV-1 viruksen p24-antigeenia. Menetelmä on entsyymi-fluorimetrinen määrittäminen (ELFA, Enzyme Linked Fluorescence Assay). Negatiivinen tulos on $<3,0$ pikogrammaa millilitrassa (pg/ml), rajapositiiviset tulokset ovat välillä $\geq 3,0 < 5,0$ pg/ml. Reaktiivisen näytteen määrittäminen tämän menetelmän mukaan on $\geq 5,0$ pg/ml. Raja-arvoiset ja positiiviset näytteet tulee varmistaa uudella näytteellä ja myös vasta-aineiden samanaikainen määrittäminen on suositeltavaa. (HUSLAB 2006b: 1–3.) HUSLABissa suoritettujen tutkimusten mukaan HIV p24-antigeenimäärittäminen on varmuudella positiivinen vain, jos HIV-RNA-kopioita on $>200\,000$ kopiota/ml. (Suni 2007).

Tämä menetelmä ei sovellu yksinään HIV-tartunnan toteamiseen tai poissulkuun, sillä HIV1 p24-antigeenia esiintyy mitattavissa määrin vain joko tuoreessa HIV-infektiossa tai infektion aktivoituessa taudin AIDS-vaiheessa. Huomattavaa mittausepävarmuuteen liittyvää antigeenipitoisuuden vaihtelua esiintyy erityisesti matalissa positiivisissa näytteissä. (HUSLAB 2006b: 1.)

Vain osalla tartunnan saaneista HIV p24-antigeeni on positiivinen tartunnan alussa ja lopussa. HIV p24-antigeeni on osoitettavissa vain lyhyen aikaa, noin kaksi viikkoa tartunnan alkuvaiheessa, joten menetelmästä on hyötyä tartunnan tuoreutta arvioitaessa. (Suni 2007.)

3.2.4 HIV-RNA määrittäminen

Tuoreen HIV-tartunnan diagnoosia voidaan varhentaa HIV:n nukleinihapon (RNA) kvantitatiivisella määrittämisellä (HIV1Nt) plasmasta. RNA-määrittäminen ei ole kuitenkaan ensisijainen HIV-tartunnan seulontatesti. Määrittäminen käytetään mm. HIV-positiivisten

potilaiden lääkityksen tehokkuuden seurantaan sekä joissain tapauksissa myös infektion alkuvaiheen toteamiseksi. (Huovinen ym. 2005: 573–574; Suni 2007.)

4 HIV-PIKATESTIT

HIV-pikatestien tulokset ovat nopeasti ja helposti saatavilla, jonka vuoksi yhä useampi ihminen saattaa hakeutua testattavaksi ja saada tietää mahdollisesta HIV- tartunnastaan. Pikatestien käyttöä maailmalla seuraa Maailman terveysjärjestö WHO, joka tekee myös testien evaluaatiota ja antaa tulosten perusteella suosituksia testien käytöstä. Evaluointi tarkoittaa testin tulosten arviointia, jonka kautta voidaan tehdä testille myös validointi eli menetelmän soveltuvuuden varmistaminen käyttötarkoitukseensa. Evaluoinnilla ja validoinnilla pyritään testin luotettavuuden todentamiseen. (WHO 2004: 6; Leinikki 1999: 8; Sinervo 2006.)

Suomessa HIV-pikatestien käyttö on luvanvaraista toimintaa, jota säätelee Suomen tartuntatautilaki. Toistaiseksi yksityinen henkilö ei voi Suomessa ostaa HIV-pikatestiä. HIV-pikatestiä tekevän joko julkisen tai yksityisen laboratorion täytyy tehdä sopimus tukilaboratorion kanssa HIV-pikatestien käyttöönotosta. Tukilaboratorio tarkoittaa kliinisen mikrobiologian laboratoriota, jolla on asianmukaiset toimiluvat. Tartuntatautilain mukaan kliininen mikrobiologi myös vastaa diagnostiikasta. (Suni 2007.)

HIV-pikatestit osallistuvat Suomessa laadunarviointikierrokseen Labqualityn toimesta. Kaikki paikat, jotka käyttävät pikatestejä ovat velvollisia osallistumaan laadunarviointikierrokselle. Kierroksia on Suomessa neljä vuodessa. Vuonna 2006 osallistui Determine® HIV-1/2 -testillä kierrokselle 5 laboratoriota. (Suni 2007.)

Suomessa AIDS-tukikeskus suosii HIV-pikatestejä rutiinimenetelmien sijaan. Testaaminen on asiakkaalle ilmaista ja siihen on mahdollista tulla anonymisti. Pikatestin tuloksen ollessa positiivinen, otetaan suoniverinäyte varmistustutkimuksena. Tukikeskuksen pikatestejä käyttävät työntekijät ovat saaneet asianmukaisen koulutuksen testien käyttöön, ohjaukseen ja neuvontaan. Testitulokseen mahdollisesti liittyvistä seuraamuksista keskustellaan asiakkaan kanssa ennen ja jälkeen testauksen.

Oulun AIDS-tukikeskuksen alueella on tarkoitus selvittää pilottihankkeena vuoden 2007 aikana pikatestien laajempaan käyttöönnottoon liittyviä seikkoja, mm. miten yhteistyö onnistuisi esim. terveyskeskusten kanssa. (HIV-säätiö/ AIDS-tukikeskus 2007: 10.)

Kansanterveyslaitoksen HIV-laboratorio toimii HIV-epidemiologian ja diagnostiikan kansallisena referenssi- ja tutkimuslaboratoriona (katso alaluku 4.6). HIV-laboratorio tekee tutkimusta, jonka avulla seurataan Suomen HIV/AIDS-epidemian kehittymistä. Tutkimukseen liittyen laboratorio toteuttaa serologisia ja geneettisiä tutkimuksia, kuten HI-viruksen alatyypimäärityksiä. (Kansanterveyslaitos 2007a.)

Kansanterveyslaitos suositteli vuonna 1999 pikatestien käyttöönottoa Suomen vankiloissa, koska vankilaolosuhteissa HIV-epidemian leviämisen vaara on suuri yhteisten huumeruiskujen ja muiden välineiden kautta. Pikatestit ovatkin käytössä nykyään monissa Suomen vankiloissa. Vankiloissa tehdyissä testeissä on ennen vuotta 1998 todettu korkeintaan yksi uusi tartunta vuodessa, mutta vuonna 1998 niitä todettiin kuusi ja vuonna 1999 yli 24 liittyen käynnissä olleeseen iv-huumeidenkäyttäjien HIV-epidemiaan. Vuonna 2005 tehtiin yhteensä 1073 testiä, joiden tuloksena löydettiin enää vain 2 uutta HIV- tartuntaa. Testaaminen on vangeille vapaaehtoista ja tulokset käsitellään luottamuksellisesti. Vankiloiden sairaanhoitajat ovat saaneet asianmukaisen koulutuksen pikatestien käyttöön ja potilaan opastukseen liittyvissä asioissa. (Arpo 1999: 8; Vankeinhoitolaitos.)

Jotkin maat, kuten Venäjä ja Australia, vaativat viisumien myöntämiseksi negatiivisen HIV-todistuksen. Esimerkiksi Venäjällä tarvitaan HIV-negatiivinen todistus yli kolmeksi kuukaudeksi myönnettäville viisumeille. Asiakkaiden matkustamisprosessin nopeuttamiseksi HIV-pikatestejä on otettu käyttöön myös joidenkin yksityisten lääkärikeskuksien laboratorioissa. (Savolainen 2007; Venäjän federaation suurlähetystö Suomessa.)

Pikatestit ovat tulleet jäädäkseen, mutta teknologia ei ole kuitenkaan kehittynyt niin pitkälle, ettei laboratorioalan asiantuntemusta tarvittaisi. Laboratorioiden vastuu tulee korostumaan yhä enemmän. Tärkeää olisi kehittää yhteistyötä mm hoitoyksiköiden ja laboratorioiden välillä. (Weber 1998: 55.)

4.1 HIV-pikatestien hyötyjä

Pikatesti tarjoaa helpon tavan tutkia onko testaukseen tulevalla HIV-tartunta. HIV-pikatesteillä tulos saadaan paljon nopeammin ja vaivattomammin kuin rutiinimenetelmillä. Pikatestit eivät vaadi kalliita alkuinvestointeja laitteisiin eikä niiden käyttö aiheuta suuria kustannuksia. Testauksen voi suorittaa terveydenhuollon ammattilainen, joka on saanut asianmukaisen perehdytyksen testien käyttöön. Testit säästävät asiakkaan aikaa ja matkakustannuksia. Pikatestien etuna voidaan myös pitää niiden soveltuvuutta yksittäisen tai muutaman näytteen testaukseen. CDC:n tutkimustulosten mukaan HIV-pikatestien käyttö tehostaisi merkittävästi myös HIV-testaukseen liittyvän ehkäisyn ja neuvonnan vaikutusta. (Leinikki 1999: 8-11; World Health Organization 2004: 10–15.)

Maissa, joissa laboratoriotekniikka ei ole riittävän pitkälle kehittynyt, pidetään pikatestejä rutiinimenetelmiä käyttökelpoisempina. Pikatestien käyttöön ei yleensä tarvita mitään erityisiä laboratoriovälineitä ja tarvittavat reagenssit tulevat näytepakkauksen mukana. Testit eivät yleensä vaadi jääkaappisäilytystä ja ovat tästä syystä sopivia kaukaisille alueille ja maaseudulle maissa, joissa sähkön saanti ei ole aina turvattua, koska pikatestejä pystyy käyttämään ilman sähköä. Lämpötilan olisi kuitenkin oltava noin 2–30 asteen välillä, sillä liian matalat tai korkeat säilytyslämpötilat vaikuttavat testien laatuun. (World Health Organization 2004: 13–16.)

4.2 HIV-pikatestien haittoja

Pikatestit ovat helppoja ja nopeita, jos testattavia näytteitä ei ole paljon. Potilas haluaa usein pikatestin tuloksen nopeasti, mutta vastauksen saamisessa kestää kuitenkin oma aikansa, sillä HIV-pikatestien käytön yhteydessä on testattavalle annettava neuvontaa pikatesteistä. Pikatestit ovat paljon käytettyinä kalliimpia kuin analysaattoreilla tehtävät tutkimukset. Pikatestien käyttöä ei voi automatisoida, koska ne ovat erillisiä testejä ja lisäksi testien tekeminen sitoo työntekijää, jonka on joka aina luettava testitulokset tietynä ajankohtana. Tulosten lukeminen on subjektiivista eli tekijäkohtaista, joten työntekijän vaihto saattaisi vaikuttaa testituloksiin. Tulokset pitäisi kirjata ylös käsin, toisin kuin automaattilla, jolla tulokset kirjautuvat itsestään. Tosin pikatesteille on kehitetty myös

lukulaite, joka minimoisi lukijasta aiheutuneet virheelliset tulokset. (Leinikki 1999: 8; Suni 2007; Teknologian kehittämiskeskus 2005.)

Negatiivisissa testituloksissa on otettava huomioon hitaan serokonversion mahdollisuus. Serokonversio tarkoittaa vasta-aineen määritystuloksen muutosta vasta-aineiden ilmaantumisen seurauksena. Merkittävä muutos on negatiivisen tuloksen muuttuminen positiiviseksi. Mikäli altistustilanteesta on kulunut vain vähän aikaa, tulisi potilas ohjata uusintatestiin, koska negatiivinen tulos saattaa muuttua uusintatestissä positiiviseksi. Pikatestituloksen ollessa positiivinen näyte lähetetään jatkotutkimuksiin rutiinimenetelmiä käyttäviin laboratorioihin. Myös tästä johtuen testituloksen saaminen voi kestää pidempään, kuin jos asiakas olisi tullut testattavaksi suoraan laboratorioon. (Centers for Disease Control 2003: 329 – 332; Duodecim 2002: 600; Rintala-Sutinen 2005: 4978.)

Virheellisen alustavan tuloksen on pelätty johtavan jopa itsetuhoisiin reaktioihin ennen kuin oikea tulos saadaan varmistettua. Tästä ei ole kuitenkaan varsinaista tutkittua tietoa. Kansanterveyslaitoksen tutkimuksissa vääriksi alustaviksi positiivisiksi tuloksiksi osoittautui 0,4 % pikatestien tuloksista. On myös muistettava ettei mikään testi ole aivan varma tartuntojen löytäjä. (Leinikki 1998: 11–12.)

4.3 Pikatestien menetelmäperiaatteet

Teknologian kehittyminen on johtanut useiden erilaisten pikatestien kehittämiseen, joita ovat mm. agglutinaatiotestit, mittatikkutestit ja immunokromatografiset testit. Monet näistä testeistä ovat liuskan tai kasetin muodossa ja sisältävät tarvittavat reagenssit. Reagenssit sisältävät gp41-, gp120- ja p24-antigeeneja sekä synteettisinä peptideinä että rekombinantti-antigeeneina. (World Health Organization 2004: 13–16.)

Menetelmäperiaatteiden esimerkit ovat kolmen eri HIV-pikatestin käyttöohjeista: Determine® HIV-1/2 (Abbott), Core® HIV 1&2 (Core Diagnostics) ja ImmunoFlow® HIV1-HIV2 (Core Diagnostics). Testit havaitsevat HIV-1- ja HIV-2-vasta-aineita. Testit ovat kvalitatiivisia eli laadullisia ja tulokset luetaan visuaalisesti. Nämä pikatestit ovat ainoita Euroopassa hyväksytyjä eli CE-leimattuja pikatestejä. CE-leima on valmistajan vakuutus siitä, että tavara täyttää sitä koskevat Euroopan yhteisön lainsäädännön

vaatimukset. Determine® on ainoa pikatesti, jota käytetään Suomessa. (Abbott 2003; CORE Diagnostics 2006a; CORE Diagnostics 2006b; Kuluttajavirasto; Suni 2007.)

4.3.1 Determine® HIV-1/2

Testauksen aikana näyte sekoittuu testiliuskalla kulkiessaan testissä olevien seleniumkolloidiyhdistelmä-antigeenien kanssa. Tämä yhdistelmäseos jatkaa liuskalla kulkuaan tulos- ja kontrolliviivaa kohti. Jos HIV-1 ja /tai HIV-2-vasta-aineita on näytteessä, niin ne tarttuvat tulosviivan kohdalle kiinnitettyihin yhdistelmä-antigeeneihin ja synteettisiin peptideihin sekä seleniumkolloidiyhdistelmä-antigeeneihin. Tästä muodostuu testiliuskalla tulosviivan kohdalla nähtävä punainen viiva (KUVIO 4). Jos vasta-aineita ei ole läsnä, ohittaa yhdistelmäseos tulostokohdan tarttumatta siihen kiinni ja tulosviivaa ei muodostu. Yhdistelmäseos kohtaa vielä kontrolliviivan ja siihen sen tulee tarttua kiinni. (Abbott 2003.)

4.3.2 Core® HIV 1&2

Core-testillä on 2-vaiheinen ”voileipä”-tyyppinen menetelmäperiaate. Testiliuska on päällystetty puhdistetulla gp41-antigeenilla ja rekombinantti-p24-antigeenilla liitettynä HI-viruksen alatyypin O:n synteettiseen peptidiin. Nämä havaitsevat HIV-1:n ja rekombinantti-antigeeni-gp36 puolestaan HIV-2:n. (CORE Diagnostics 2006a.)

Kun näyte liikkuu testiliuskalla, HIV-1 ja HIV-2 ja spesifiset kolloidikulta-yhdistelmä-antigeenit yhdistyvät näytteen sisältämien HIV vasta-aineiden kanssa. Yhdistelmä liikkuu eteenpäin tulosalueelle, jossa liuskaan päällystetyt HIV-1 ja HIV-2 spesifiset yhdistelmäantigeenit tarttuvat kiinni näytteessä mahdollisesti oleviin vasta-aineisiin. Tämän seurauksena syntyy värillinen viiva, joka merkitsee positiivista tulosta (KUVIO 5). Mikäli viivaa ei muodostu, ei näytteessä ole HIV-vasta-aineita. Reagoimaton konjugaatti ja yhdistymätön kompleksi liikkuvat eteenpäin testiliuskalla, kunnes kontrolliviivan antigeenit tarttuvat näihin yhdisteisiin kiinni ja kontrolliviivan kohdalle muodostuu punainen viiva. Testin antigeeni-vasta-aine-antigeeni -yhdistelmän muodostuminen tarkoittaa tätä ”voileipä”-tyyppistä menetelmää. (CORE Diagnostics 2006a.)

4.3.3 Immunoflow® HIV1-HIV2

Testi pystyy HIV1 ja HIV-2-vasta-aineiden havaitsemisen lisäksi erottamaan ne toisistaan. Testikalvo on päällystetty erikseen HIV-1- ja HIV-2-vasta-ainespesifeillä antigeeneillä. Kontrolliviiva muodostaa kolmannen viivan. Puhdistetut antigeenit gp41 ja p24 fuusiopolypeptidi havaitsee HIV-1:n ja synteettinen peptidi gp36 puolestaan HIV-2:n. Samat antigeenit on myös päällystetty kolloidikullalla. (CORE Diagnostics 2006b.)

Näytettä tiputetaan testiliuskalle ja annetaan sen liikkua liuskaa pitkin. Näytteen mahdollisesti sisältämät vasta-aineet sitoutuvat kukin omiin antigeeneihinsä, jotka on päällystetty kolloidikullalla. Tämän seurauksena syntyy vasta-aine-antigeeni-kolloidikulta-yhdistelmä. Tämä yhdistelmä liikkuu eteenpäin testiliuskalla ja liuskalla olevat HIV-spesifiset antigeenit ottavat sen kiinni. Tämän seurauksena syntyy punainen viiva HIV-1- tai HIV-2-tuloskohtaan (KUVIO 6). Sitoutumaton materiaali liikkuu eteenpäin testiliuskan toiseen päähän, jossa vuohessa tuotettu anti-kani-IgG-vasta-aine vangitsee kanin IgG-vasta-ainekullan ja sen seurauksena muodostuu kontrolliviiva. (CORE Diagnostics 2006b.)

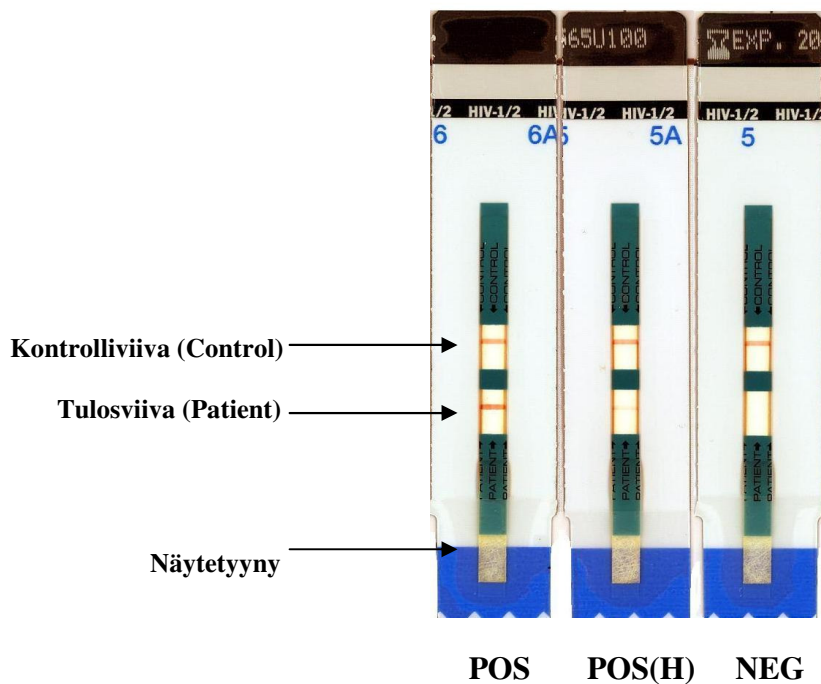
4.4 Pikatestien työohjeet

Pikatestien työohjeet on luettu pikatestipakkauksien mukana tulleista ohjeista. Jokaisella testillä oli hieman erilailla kuvailtu testin tekeminen, joten työohjeet on kuvailtu hieman erilailla testistä riippuen. Työohjeissa oli kuvailtu tarvittavat materiaalit ja reagenssit. Testiin soveltuvasta näytteen keräyksestä ja näytemateriaaleista oli kuvaus. Näytteen laadun haittavaikutuksista (esimerkiksi lipeeminen tai hemolysoitunut) oli myös kerrottu. Tuloksen lukeminen oli esitetty positiivisen ja negatiivisen testin kuvana. Lisäksi testiohjeissa oli kerrottu tilanteita, jolloin tulos voi olla väärä. (Abbott 2003; CORE Diagnostics 2006a; CORE Diagnostics 2006b.)

4.4.1 Determine® HIV-1/2

Testien näyttemateriaaleiksi soveltuu seerumi, plasma ja kokoveri (EDTA sekä kapillaariveri). Plasmanäyte on eroteltava EDTA-putkesta. Seerumi ja plasmanäytteitä voidaan säilyttää testikelpoisena jääkaapissa viikon ajan ja pakkasessa pidemmän aikaa. Laskimoveri säilyy viikon jääkaapissa. Kapillaariveri on käytettävä saman tien. Näytteenotossa tulee välttää hemolyysiä, sillä se voi vaikuttaa tuloksen oikeellisuuteen. Jos näyte ei ole tasalaatuinen, tulee se sentrifugoida ennen pipetointia. (Abbott 2003.)

Determine-testissä seeruminäytettä pipetoidaan näytetyynylle 50 mikrolitraa (μl), jonka jälkeen odotetaan 15–60 minuuttia reaktion muodostumista. Jos näyttemateriaalina käytetään laskimoverta, on minuutin päästä näytteen pipetoinnista lisättävä vielä pisara ajoliuosta (Chase Buffer) näytetyynylle. Jos näyttemateriaali on kapillaarivertä, tulee ajopuskuripisara lisätä sitten, kun näyte on imeytynyt tyynylle. Positiivisesta tuloksesta kertoo kaksi punaista viivaa testillä (kontrolli- ja tulosviiva). Negatiivinen tulos näkyy vain kontrolliviivan ilmestymisellä. Pikatestin luotettavuutta kuvaa kontrolliviiva testin näyttöikkunassa. Tuloksia ei hyväksytä, mikäli näyttöikkunasta puuttuu kontrolliviiva (KUVIO 4). (Abbott 2003.)

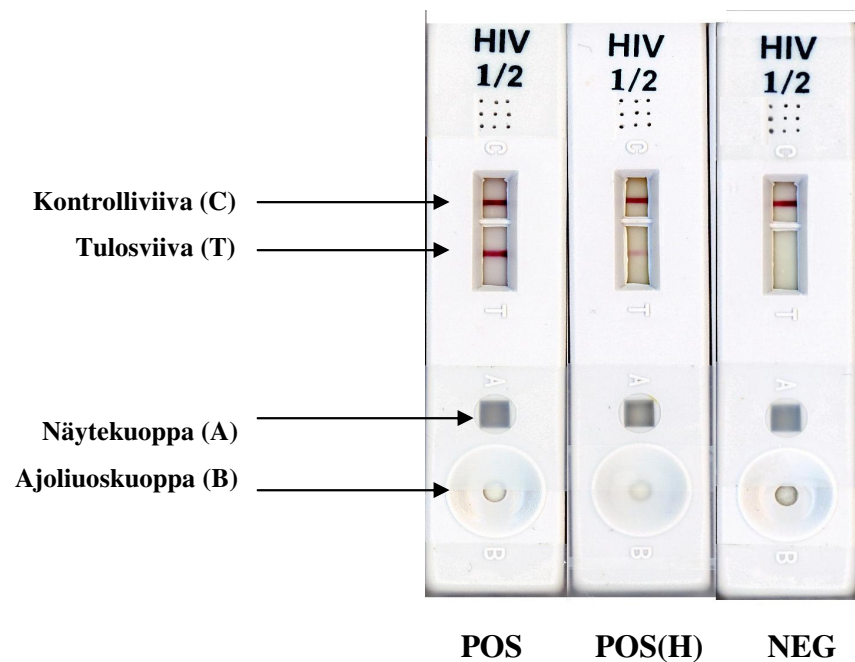


KUVIO 4. Determine® HIV-1/2 –pikatestejä. (Koljonen – Lindqvist 2007).

4.4.2 Core® HIV 1&2

Core-testissä tiputetaan kaksi tippaa seerumia näytekuppaan (A), jonka jälkeen lisätään viisi tippaa puskuria ajoliuoskuoppaan (B). Tulokset luetaan heti 15 minuutin kuluttua, mutta viimeistään 30 minuutin kuluttua. Tämän jälkeen tulos ei ole enää luotettava.

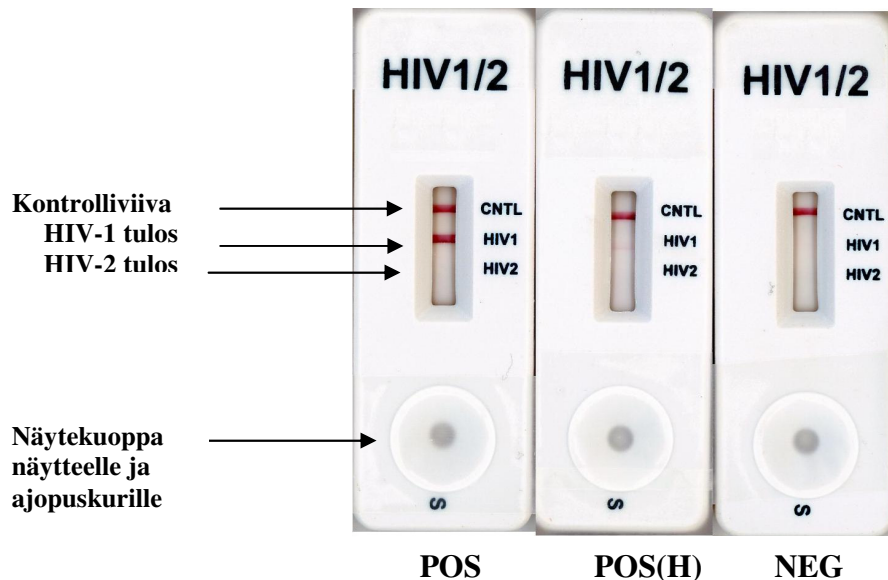
Tulos on negatiivinen, kun tulosikkunaan ilmestyy vain yksi punainen kontrolliviiva (C) vastakkaiseen päähän näytekolosta. Kontrolliviiva kertoo, että testi toimii ja tulos on luotettava. Positiivinen reaktio näkyy testissä kontrolliviivan lisäksi punaisena viivana testin tulosikkunassa (T) kontrolliviivan alapuolella. Testin suoritus on epäonnistunut, jos testin tulosikkunaan ei ilmesty yhtään viivaa tai kontrolliviiva puuttuu (KUVIO 5). (CORE Diagnostics 2006a.)



KUVIO 5. Core® HIV 1&2 –pikatesteja. (Koljonen ym. 2007).

4.4.3 Immunoflow® HIV1-HIV2

Immunoflow-testissä pipetoidaan yksi tippa seerumia näytekoloon S, jonka jälkeen lisätään kaksi tippaa puskuria samaan näytekoloon. Tulokset luetaan heti 15 minuutin kuluttua, mutta viimeistään 30 minuutin kuluttua. Tämän jälkeen tulos ei ole enää luotettava. Tulos on negatiivinen, kun tulosikkunaan ilmestyy vain yksi värillinen kontrolliviiva (C) vastakkaiseen päähän näytekolosta. Tulos on positiivinen, kun kontrolliviivan lisäksi värillinen viiva ilmestyy joko HIV1 tai HIV2 testituloksen kohdalle. Testin suoritus on epäonnistunut, jos testin tulosikkunaan ei ilmesty yhtään viivaa tai jos kontrolliviiva puuttuu. (CORE Diagnostics 2006b.)



KUVIO 6. Immunoflow® HIV1-HIV2 –pikatestejä. (Koljonen ym. 2007).

4.5 Pikatestien luotettavuus

Kaikissa lääketieteellisissä tutkimuksissa, kuten laboratoriokokeissa tai muu tutkimus, on aina olemassa tietty todennäköisyys, jolla menetelmä antaa oikean tuloksen.

Tavallisesti sensitiivisyys (Sensitivity) ja spesifisyys (Specificity) kuvaavat menetelmän luotettavuutta eli kuinka hyvä testi on ja osataanko se tehdä oikein. Positiivinen ennustearvo (Positive Predictive Value) kuvaa sitä, kuinka suurella todennäköisyydellä tutkittavalla todella on sairaus. Sen arvo ei riipu niinkään testin hyvydestä, vaan tutkittavan sairauden esiintyvyydestä eli prevalenssista. (Ryynänen 1997.)

TAULUKKO 1. Menetelmien tulosten todennäköisyyksien riippuvuudet toisistaan.

| | On tauti | Ei ole tautia |
|--------------------|----------|---------------|
| Testi positiivinen | OP | VP |
| Testi negatiivinen | VN | ON |

Taulukossa 1 olevat lyhenteet kuvaavat oikeita ja vääriä tuloksia. OP =oikeat positiiviset, VP = väärät positiiviset, VN = väärät negatiiviset ja ON = oikeat negatiiviset. Testin sensitiivisyys on $OP/(OP+VN)$ eli positiivisten testitulosten osuus kaikista joilla on tauti. Testin spesifisyys on $VP/(VP+ON)$ eli negatiivisten testitulosten määrä kaikista joilla ei ole tautia. Positiivisen ennustearvon määritelmä on $OP/(OP+VP)$ eli sairaiden määrä kaikista positiivisen testituloksen saaneista. Sairauden prevalenssi eli esiintyvyys olisi $(OP+VN)/(OP+VP+VN+ON)$ eli sairaiden määrä koko väestöstä. Taulukkoa 1 tarkastelemalla voidaan todeta, että testin sensitiivisyys ja spesifisyys eivät riipu prevalenssista, mutta prevalenssin kasvaessa positiivisen ennustearvon täytyy myös kasvaa. Vastaavasti prevalenssin pienentyessä positiivinen ennustearvo pienenee. (Ryynänen 1997.)

Lääketieteessä puhutaan kultaista standardista (Gold Standard), kun arvioidaan testituloksien luotettavuutta. Se viittaa diagnostisten testien (myös pikatestit) yhteydessä parhaaseen mahdolliseen käytettävissä olevaan diagnoosimenetelmään, joka antaa luotettavimman ja tarkimman tuloksen. Tämän standardin tuloksen oletetaan olevan lähes 100 %:sti oikein. Sen avulla lasketaan sensitiivisyys ja spesifisyys arvot. Mutta kultaisen standardin diagnoosimenetelmät ovat usein hyvin työläitä suorittaa ja kalliita. (Helsingin yliopisto kansanterveystieteen laitos: 16.) Laboratoriodiagnostiikassa

puhutaan taas usein referenssimenetelmästä, kun verrataan pikatestin luotettavuutta. (World Health Organization WHO 2005).

Mikrobiologiassa oikeellisuuden eli täsmällisesti oikean tuloksen (Trueness) määrittäminen ei ole yksinkertaista. Mikrobeista ei pystytä tekemään valmisteita, joiden todellinen pitoisuus olisi tiedossa ja pysyisi muuttumattomana, koska ne ovat elävää materiaalia. Mikrobiologiassa pidetään oikeana tuloksena yleensä menetelmän antaman keskiarvotuloksen (useita toistoja) ja hyväksytyn arvon lähekkäisyyttä. Hyväksytty arvo on sertifioituilla referenssimateriaaleilla saatu "todellinen arvo". Referenssimenetelmä on menetelmä, jonka ominaisuudet tunnetaan perusteellisesti. Menetelmä on hyvin täsmällisesti kuvattu ja sen on osoitettu antavan oikeita sekä toistettavia tuloksia. Menetelmää voidaan käyttää muiden saman suureen mittaamiseen tarkoitettujen menetelmien arvioimiseen ja erityisesti vertailuaineiden testaamiseen. (Elintarvikevirasto ja Eläinlääkintä- ja elintarvikelaitos 1997: 4-6.)

Pikateihin liittyy samanlaisia mittausepävarmuustekijöitä kuin muihinkin testeihin. Satunnaisvirhe (Random Error) on mittausvirhe, jonka suuruus vaihtelee satunnaisesti (toistotarkkuus), kun tutkitaan samaa näytettä samantyyppisissä olosuhteissa samalla testillä. Satunnaisvirhe voi johtua esimerkiksi suorittajasta, välineistä ja ympäristötekijöistä. Systemaattinen virhe vaikuttaa tulosten oikeellisuuteen (Trueness/Accuracy). Satunnaisvirheen saa selville toistoilla, mutta systemaattisen virheen voi paljastaa vain tunnetulla näytteellä (kontrollinäyte). (Helsingin yliopisto 2005: 1.)

5 AIKAISEMPIA TUTKIMUKSIA HIV-PIKATESTEISTÄ

HIV-pikatestien luotettavuutta on tutkittu paljon. Pikatestien sensitiivisyyttä ja spesifisyyttä voidaan tutkia eri maanosien väestöistä, raskaana olevia erikoisesti testaamalla, muita tauteja sairastavista (HIV-tulokseen mahdollisesti vaikuttavien tautien aiheuttavista viruksista, kuten herpesvirukset). Lisäksi monia HIV-pikatestejä on testattu erikokoisilla otoksilla. Determine® HIV-1/2 pikatestistä löytyy paljon tutkimuksia, mutta Core® HIV 1&2- ja Immunoflow® HIV1-HIV2-pikatesteistä löytyy heikommin tietoja. Seuraavissa esitellyissä aikaisemmissa tutkimuksissa ovat HIV-

pikatestien luotettavuusarvot samaa luokkaa, kuin useimmissa vastaavissa tutkimuksissa.

Maailman terveysjärjestö WHO ja Yhdistyneiden Kansakuntien ”AIDS-järjestö” UNAIDS ovat julkaisseet yhteisen suosituksen, jossa määritellään HIV-pikatestien käyttötilanteet. Laajat kansainväliset tutkimukset ja WHO:n teettämä testien evaluaatio ovat suosituksen perusteena. Suositusten mukaan tavanomaisten ELISA-testien eli entsyymi-immunomenetelmien (Enzyme Linked Immuno Assay) herkkyys oli 100 prosenttia ja spesifisyys 98,5–100 prosenttia. Seitsemän eri pikatestin herkkyydet vaihtelivat puolestaan välillä 99,6–100 prosenttia ja spesifisyydet 98,8 ja 100 prosentin välillä. Tämän lähteen uskoisimme olevan hyvin puolueeton pikatestien suhteen ja tulosten erittäin luotettavia. (World Health Organization 1998: 321–328.)

Determine® HIV-1/2 pikatestin työohjeessa on valmistajan antamia tietoja testin luotettavuudesta. Testin spesifisyys oli 99,68 %. Tutkittavien ryhmä (N = 2805) koostui raskaana olevista naisista, Etelä-Afrikan väestöstä sekä muita tauteja sairastavista 0,32% tuloksista osoittautui vääräksi positiiviseksi (n = 9). Oikeita positiivisia oli näytteistä 0,5 % (n = 14). Pikatestin sensitiivisyys oli 100 % kaikkien valmistajan ilmoittamien tutkimusten mukaan. Vain Afrikassa tehdyissä testeissä (N=1129) sensitiivisyys oli alle sata (99,91 %). Lisäksi työohjeessa oli mukana pikatestin kvalitatiivisten tulosten vertaaminen Abbott AxSYM HIV-1/2 gO menetelmän kvantitatiivisiin tuloksiin serokonversiopaneeleilla eli negatiivisesta positiiviseen tulokseen muuttuvista testausnäytteistä. Korkein vasta-ainepitoisuus, Determine® HIV-1/2 testi ilmoitti vielä negatiiviseksi, oli 1,47 S/CO ja matalin Determine-testin havaitsema positiivinen tulos oli 4,59 S/CO. Näiden arvojen välillä olevista menetelmien vertauksista ei ollut mitään tietoa. (Abbott 2003.)

Core® HIV 1&2 testin valmistaja ilmoittaa pikatestin spesifisyyden olevan 99,75 % (N=1201) ja sensitiivisyyden olevan 100 % (N = 500). Immunoflow® HIV1-HIV2 testin ohjeessa oli myös kerrottu hyvin lyhyesti luotettavuudesta. Testin sensitiivisyys oli 100 % ja spesifisyys 99,8 % (N=624). (CORE Diagnostics 2006a; CORE Diagnostics 2006b.)

6 TYÖN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT

Työmme tarkoituksena oli testata kolmea eri pikatestiä ja tutkia testien tulosten perusteella niiden luotettavuutta. Vertaamme niistä saatuja tuloksia HUSLABin virologian osaston rutiinimenetelmillä saatuihin tuloksiin. Tutkimme testien spesifisyyttä ja sensitiivisyyttä. Testattavat pikatestit ovat Determine HIV-1/2® (Abbott), CORE HIV 1&2® (Core Diagnostics) ja IMMUNOFLOW HIV1-HIV2® (Core Diagnostics).

Tutkimuksella pyritään saamaan vastaus seuraaviin tutkimusongelmiin:

1. Kuinka luotettavia tuloksia HIV-pikatestit antavat vahvoille positiivisille, matalille positiivisille (tuoreet infektiot) sekä negatiivisille näytteille?
2. Minkälaisia tuloksia HIV-pikatestit antavat väärin reaktiivisille näytteille?
3. Kuinka yhteneviä tuloksia eri HIV-pikatesteillä saadaan?
4. Miten testaamiemme HIV-pikatestien käyttö eroaa testien kesken ja minkälaiset ongelmat voivat vaikuttaa HIV-pikatestien tulosten luotettavuuteen?

7 TUTKIMUSAINESTO JA TYÖN SUORITUS

Aloitimme työmme empiirisen eli tutkimuksellisen vaiheen keräämällä testattavat näytteet pakkasesta. Näytteistä osan valitsimme itse ja lopuista kerättävistä näytteistä saimme valmiin listan HUSLABin virologian osastolta. Listatut näytteet oli valittu niiden HIV-vasta-ainepitoisuuksien perusteella. Näytteet oli listattu kolmeen eri ryhmään: vahvat positiiviset, tuoreet infektiot ja väärin reaktiiviset näytteet. Itse valitsemamme näytteet keräsimme negatiivisiksi todettujen näytteiden joukosta sattumanvaraisesti.

Käytimme testejä tehdessämme näytteissä omia näytenumeroita. Numeroimme 100 tarralappua (1-100) ja liimasimme ne näyteputkiin satunnaisessa järjestyksessä. Toinen meistä valitsi numeron ja toinen laittoi sen sattumanvaraisesti valittuun putkeen (kaksoissokkotutkimus). Teimme tämän siksi, että pystyisimme tekemään tutkimuksen

empiirisen vaiheen täysin sokkona. Lisäksi näytteiden keräys ryhmäkohtaisesti jätti mieleemme joitain nimiä eri näyteryhmistä. Nämä tiedot olisivat saattaneet vaikuttaa pikatestien tulosten tulkintaan.

Listatuista näytteistä vahvoja positiivisia näytteitä oli 20 ja tuoreiden infektioiden näytteitä 20 eli positiivisia näytteitä oli tutkimuksessamme yhteensä 40. Lisäksi listattuna oli vääriä reaktiivisia näytteitä 20, jotka kuuluvat negatiivisten näytteiden ryhmään. Itse valitsimme 40 näytettä. Testasimme kaikki 100 näytettä kolmella eri pikatestillä, joten teimme yhteensä 300 pikatestiä.

Testasimme kymmenen pikatestiä kerrallaan. Vaihdoimme testin tekijää aina 50 näytteen välein eli molemmat tekivät 150 testiä. Toisen seurasi toisen työskentelyä. Luimme tulokset samanaikaisesti ja kirjasimme tulokset omiin tulostaukoihimme, jotta näkisimme luemmeko testitulokset eri tavalla.

8 TUTKIMUSTULOKSET

Taulukkoon 2 on laitettu käytetyt pikatestit, näyteryhmät A-D (N=100) ja testitulokset. Testitulokset jaettiin kolmeen ryhmään: oikein, väärin ja epäselviä. Oikein saadut tulokset vastasivat rutiinidiagnostiikan menetelmillä saatuja tuloksia. Väärin saadut tulokset olivat joko vääriä positiivisia tai vääriä negatiivisia. Epäselvissä tapauksissa tulokset erosivat lukijoiden kesken tai tulos ei ollut luettavissa. Tulokset ovat luettavissa tarkemmin liitteistä 1 - 4.

Determine-testillä saatiin sadasta näytteestä oikeita tuloksia 84, vääriä 15 ja epäselviä yksi. Testi antoi täysin oikeat tulokset näyteryhmistä A ja D. Vääriä tuloksia tuli B-ryhmässä 9 ja C-ryhmässä 6. Testin ainoa epäselvä tulos saatiin näyteryhmästä C.

Core-testillä saatiin sadasta näytteestä oikeita tuloksia 83, vääriä 12 ja epäselviä 5. Testi antoi täysin oikeat tulokset vain ryhmästä A. Vääriä tuloksia tuli B-ryhmässä 11 ja D-ryhmässä yksi. Epäselvät tulokset saatiin ryhmistä B ja C.

Immunoflow-testillä saatiin sadasta näytteestä oikeita tuloksia 83, vääriä 13 ja epäselviä 4. Testi antoi täysin oikeat tulokset vain ryhmästä A. Vääriä tuloksia oli B-ryhmässä 8, C-ryhmässä 3 ja D-ryhmässä 2.

Testasimme näyteryhmissä A-C 60 testiä / ryhmä ja näyteryhmässä D 120 testiä / ryhmä. Vahvasti positiivisista näytteiden ryhmässä (A) 100 % testituloksista oli oikein. Tuoreiden infektion ryhmässä (B) 45 % testituloksista oli oikein, 47 % väärin ja 8 % epäselviä. Väärin reaktiivisten näytteiden ryhmässä (C) 77 % testituloksista oli oikein, 15 % väärin ja epäselviä 8 %. Negatiivisten näytteiden ryhmässä (D) 98 % testituloksista oli oikein, 2 % väärin ja epäselviä 0.

TAULUKKO 2. Pikatestitulokset eri näyteryhmien kesken.

| NÄYTTEET (N) | | POSITIIVISET (n=40) | | NEGATIIVISET (n=60) N=100 | | |
|-------------------|-----------|---------------------|-----------|---------------------------|--------------|------------|
| | | Tuoreet | | Väärin | | |
| | | Positiiviset | infektiot | reaktiiviset | Negatiiviset | |
| Näyteryhmät (A-D) | | (A) | (B) | (C) | (D) | Yhteensä |
| Näyttemäärä (n) | | 20 | 20 | 20 | 40 | 100 |
| Determine | oikein | 20 | 11 | 13 | 40 | 84 |
| | väärin | 0 | 9 | 6 | 0 | 15 |
| | epäselviä | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Core | oikein | 20 | 6 | 18 | 39 | 83 |
| | väärin | 0 | 11 | 0 | 1 | 12 |
| | epäselviä | 0 | 3 | 2 | 0 | 5 |
| Immunoflow | oikein | 20 | 10 | 15 | 38 | 83 |
| | väärin | 0 | 8 | 3 | 2 | 13 |
| | epäselviä | 0 | 2 | 2 | 0 | 4 |
| Testejä yhteensä | | 60 | 60 | 60 | 120 | 300 |
| Yhteensä | oikein | 60 (100 %) | 27 (45 %) | 45 (77 %) | 117 (98 %) | 249 (83 %) |
| | väärin | 0 (0 %) | 28 (47 %) | 9 (15 %) | 3 (2 %) | 40 (14 %) |
| | epäselviä | 0 (0 %) | 5 (8 %) | 5 (8 %) | 0 (0 %) | 10 (3 %) |

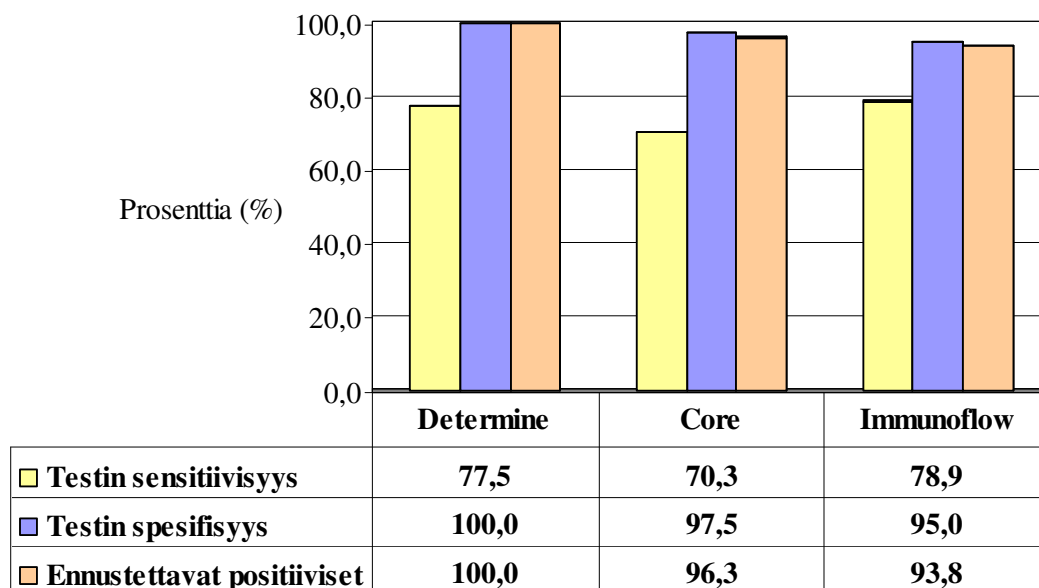
9 JOHTOPÄÄTÖKSET JA TESTIEN VERTAILU

Teimme tuloksista kolme eri taulukkoa (LIITE 5), jossa vertasimme testien sensitiivisyyttä, spesifisyyttä sekä ennustettavia positiivisia tuloksia eri näyteryhmien sisällä. Ryhmien A – D yhteistulostaulukossa tuloksissa on huomioitu kaikki testit (N = 300). Ryhmien A, B ja D yhteistulostaulukossa on jätetty näyteryhmän C tulokset kokonaan pois (N = 240). Ryhmien A ja D yhteistulostaulukossa on mukana vain näiden kahden ryhmän tulokset (N = 180).

Teimme ryhmäjaon koska halusimme vertailla pikatestien tulosten luotettavuutta eri näyteryhmien sisällä. Kahdesta taulukosta pois jätetty ryhmä C ja viimeisestä taulukosta pois jätetty ryhmä B olivat tuloksiltaan huonompia kuin ryhmät A ja D (LIITTEET 1-4).

Kuvioon 4 on koottu tilastollisia tunnuslukuja ryhmien A, B ja D yhteistulostaulukosta. Taulukon antamat tulokset kuvaavat tilannetta, jossa testien näytteinä on ollut HIV-vasta-ainemääriltään vahvoja positiivisia (A), tuoreiden infektioiden matalia positiivisia (B) sekä negatiivisia (C) näytteitä. Tämä on liitteen 5 taulukoista vertailukelpoisin muihin HIV-pikatesteistä tehtäviin tutkimuksiin ja tunnuslukuihin, joita esittelimme opinnäytetyömme aikaisempia tutkimuksia -osiossa. C- ryhmää käsittelemme erillisenä muista ryhmistä, koska ryhmän näytteet olivat väärin reaktiivisia eikä näin ollen sovellu vertailtavaksi tutkimuksiin, joissa tutkitaan nimenomaan reaktiivisia ja negatiivisia näytteitä. C-ryhmän tulokset ovat kuitenkin kiinnostavaa lisätietoa. Niillä saadaan viitteitä, kuinka EIA:n väärät positiiviset näkyvät pikatesteissä.

**PIKATESTIEN VERTAILUA TILASTOLLISILLA
TUNNUSLUVUILLA**



KUVIO 4. Taulukossa vertaillaan pikatestien luotettavuutta tilastollisten tunnuslukujen avulla, jotka on kuvattu taulukon yläpuolella myös histogrammeina.

Immunoflow-testin sensitiivisyys oli paras (78,9 %), Determine-testin sensitiivisyys oli toiseksi paras (77,5 %) ja Core-testin sensitiivisyys oli huonoin (70,3 %). Spesifisyydessä paras testi oli Determine (100 %), Core oli toiseksi paras (97,5 %) ja Immunoflow huonoin (95 %). Paras ennustettavista positiivisista arvoista oli Determine (100 %), Core oli edelleen toiseksi paras (96,3 %) ja Immunoflow oli myös tässä huonoin (83,8 %). Sensitiivisyys on sen parempi, mitä enemmän on oikeita positiivisia ja vähemmän vääriä negatiivisia tuloksia.

Spesifisyys ja ennustettavien positiivisten arvo on Determine-testillä 100 %, koska se ei antanut negatiivisista eli D-ryhmän näytteistä (LIITE 4) yhtään väärin positiivista reaktioita. Sensitiivisyydessä Determine-testi hävisi juuri ja juuri Immunoflow-testille. Mitä enemmän testi on havainnut reaktiivisia tuloksia, sen parempi testin sensitiivisyys on. Vaikka Immunoflow-testi oli parempi sensitiivisyydessä, on hyvä huomata, että sille kuitenkin tuli kaksi hylättyä näytettä B-ryhmässä, toisin kuin Determine-testille. (LIITE 2). Edellä olleissa tuloksissa hylätyt näytteet eli kahden testiajan väliset tulkitsemiserot on jätetty tuloslaskennassa pois, jolla saattaa olla vaikutusta tuloksiin.

Johtopäätöksenä toteamme Determine-testin vastaavan eniten rutiinidiagnostiikan tuloksia näistä kolmesta testistä, mutta vain spesifisyyden osalta sillä sensitiivisyysarvo 77,5 % on todella huono. Determine antoi määrällisesti (Immunoflow prosentuaalisesti) eniten oikeita positiivisia tuloksia ja kaikki negatiiviset tulokset olivat oikein. Core- ja Immunoflow-testin välillä on vaikea tehdä huomattavia johtopäätöksiä, koska testit käyttäytyivät hyvin erilailla. Molemmat testit vaikuttivat kuitenkin jossain määrin huonommilla kuin Determine-testi Liitteessä 2 on mielenkiintoisin testitulosten kohta vasta-aine-alueella 0,5–13,3 S/CO. Tämä vasta-aineiden nousun viive tuoreissa infektioissa onkin pikatestien suurin ongelma niiden käyttämisessä.

Väärin reaktiivisten näytteiden (C) pikatestien tulokset ovat erikoislaatuisia. Liitteessä 3 voi havaita paljon vaihteluita näytteiden tuloksissa eri pikatesteillä. Näytteet, joiden kohdalla saimme tässä näytteryhmässä reaktiivisen tai hylätyn tuloksen, olivat antaneet rutiinimenetelmillä heikon reaktiivisen HIVAgAb tai HIVAb vastauksen, mutta Immunoblot-testi ja/ tai HIV-p24-antigeeni olivat olleet negatiivisia. Esimerkiksi näyte 46:n tulos oli jokaisella testillä eriävä lukijoiden kesken. Näytteen vasta-ainetulos oli rutiinimenetelmien CUT-OFF rajan ylärajalla 0,9 S/CO eli heikosti reaktiivisena, mutta koska HIV-p24-antigeeni oli kuitenkin negatiivinen, oli tulos tulkittu väärin reaktiiviseksi.

9.1 Pikatestien käyttökelpoisuus

Determine-testin tulosviivojen luettavuus oli paras. Tulos oli helppo lukea, koska testin tausta oli kirkas ja selkeä. Testi oli helppo suorittaa, koska näytteet olivat seerumia, jonka vuoksi ajoliuosta ei tarvinnut käyttää. Testit toimivat jokaisen sadan näytteen kohdalla samalla tavalla, näytteet kulkivat kalvolla tasaisesti ja kontrolleissa ei ollut mitään poikkeavaa eli testit olivat tasalaatuisia. Determine-testin huonona puolena pidimme testin materiaalia. Testi oli ohut ja kevyt liuska, joka saattoi taipua sitä käsiteltäessä. Determine-testin 15 – 60 minuutin lukuaika on mielestämme liian pitkä, sillä testiliuska ehti osittain kuivua jopa tunnissa. Determine-testissä lukuaika ei vaikuttanut tuloksiin lähes ollenkaan. Testin ainoa epäselvä tulos oli jo edellä kuvattu näyte 46.

Core-testin hyvänä puolena voisimme mainita vahvana näkyvät kontrolli- ja tulosviivat. Testissä näkyi tausta tummempana, kuin Determine- tai Immunoflow-testissä. Vaikutti siltä, kuin näytteen ikteerisyys eli keltaisuus olisi värjännyt taustaa kellertäväksi. Testin materiaali oli vahvaa muovia ja pidimme tätä hyvänä ominaisuutena testin käyttämisen kannalta. Huonona puolena testissä oli taustan punaraitaisuus lukuvaiheessa muutamassa testissä sekä ajonesteeseen epätasainen liikkuminen. Yhdessä testissä kontrolliviivan sijainti oli paljon korkeammalla, kuin muissa Core-testeissä. Testissä olevat kaksi eri kuoppaa näytteelle ja ajoliuokselle saattaa olla yksi testin virhelähteistä, jos pipetoi väärin.

Immunoflow-testin tulosviivat olivat selkeitä. Tausta oli pääosin vaalea, mutta muutamien näytteiden kohdalla taustassa näkyi punaraitaisuutta. Testin materiaali oli Core-testin tavoin vahvaa muovia, mutta hieman leveämpi kuin Core-testit. Testi oli mielestämme paras tehdä, koska se oli tukevaa materiaalia ja näytteelle ja ajoliuokselle oli vain yksi kolo.

9.2 Poikkeavat pikatestitulokset

Core-testin ainoa väärä positiivinen tulos (näyte 86) negatiivisten näytteiden joukossa saattoi johtua testin taustan epäselvyydestä tai väärin lukemisesta. Yhden näytteen (näyte 54) kohdalla ajoliuos ei saavuttanut kontrolliviivaa 30 minuutin kuluessa. Toinen epäselvä näyte (näyte 46) oli sama kuin muissakin pikatesteissä.

Core- ja Immunoflow-testeihin ei riittänyt yhdestä näytteestä (näyte 32) testeihin tarvittavaa määrää. Determine- ja Immunoflow-testi antoivat oikean tuloksen tästä näytteestä. Core-testillä tulos oli epäselvä lukijoiden kesken.

9.3 Tulosten luotettavuus

Parityöstä on hyötyä tulosten tulkinnan luotettavuuden kannalta, sillä luimme molemmat kaikki testitulokset erikseen ja pystyimme vertaamaan tuloksia keskenämme. Teimme testit tarkasti työohjeita noudattaen. Testejä tehdessä ei todennäköisesti sattunut virheitä, koska toinen seurasi jatkuvasti toisen työskentelyä. Työssämme

kontrolleina toimivat testattavat näytteet, koska niistä oli rutiinimenetelmillä saadut tulokset tiedossa.

Valaistuksella oli merkitystä jossain määrin, sillä ensimmäiset testit saimme tehtyä hyvin valaistussa laminaarikaapissa ja tuloksien lukeminen onnistui sujuvasti. Toisen testisarjan teimme työpöydällä, jossa oli pääosin vain huonevalaistus, mutta ei kohdevaloa. Hämärä valo häiritsi hieman keskittymistä. Kahden sarjan jälkeen totesimme kuitenkin, että liian läheltä ei kannata lukea tuloksia, sillä liian läheltä katsottuna saattaa kuvitella tulosviivan häivähdyksen.

Näytteissä ei ollut hemolyysiä. Näytteet oli säilytetty oikein. Näytteitä on käsitelty meidän lisäksi vain HIV-työpisteeseen perehdytetyt henkilöt, joten positiivisesta näytteestä johtuneeseen kontaminaatioon emme usko. Omassa työssämme kontaminaatiovirheet vältimme järkevällä työjärjestyksellä ja oikeilla työtavoilla. Käsittelimme joka testin kohdalla näytteitä samalla tavalla ja sekoitimme jokaisen näytteen ennen testausta.

Pikatestit olivat avaamattomia ja ne olivat voimassa niiden testipakettien vanhenemispäivämäärän mukaan. Oletettavasti pikatestejä oli myös säilytetty oikeissa olosuhteissa. Myös ajoliuokset olivat avaamattomia.

10 POHDINTA

HIV-testauksen yksi tavoite on auttaa taudin ehkäisyssä. Nykypäivänä pikatestejä käytetään yhä enemmän ja pikatestien käyttöalueita kehitetään lisää. HIV-pikatestien luotettavuutta olisi tarpeellista tutkia lisää. Tulevaisuudessa HIV-pikatestejä tulisi testata isommilla näyteryhmillä ja varsinkin tuoreiden infektioiden näytteillä.

Tuloksiemme perusteella pikatestit eivät havaitse hyvin aikaisen vaiheen infektiota ja ne voivat antaa myös vääriä positiivisia tuloksia. Testitulosten tulkinta ei ole aina täysin selkeää, sillä tulosviivan vahvuus saattaa olla todella heikko joidenkin näytteiden kohdalla. Testivalmistajien mukaan tulosviivan vahvuudella ei ole yhteyttä vastainemäärien pitoisuuksien kanssa, mutta Determine-testi näytti kuitenkin korreloivan

todella hyvin tässä suhteessa. Core- ja Immunoflow-testien tulosviivojen vahvuuksilla ei näyttänyt olevan yhteyttä vasta-ainemääriin. Näistä kolmesta testistä pidimme Determine-testiä luotettavimpana.

Tutkimuksemme näytemateriaali koostui ennalta selektiivisesti valituista näytteistä, jonka vuoksi aikaisempiin tutkimuksiin verrattuna tuloksemme olivat huomattavasti huonompia. Tästä tulee mieleen vain se millaisilla näytteillä aikaisempien tutkimuksien testit on tehty? Ovatko kaikki aikaisempien tutkimuksien positiiviset näytteet olleet hyvin korkeita vasta-ainetuloksiltaan? Testivalmistajien luotettavuuksiin kannattaa myös suhtautua hieman varovaisemmin. Edellä mainituissa tutkimuksissa otoksen määrä olisi voinut olla suurempi. Mutta huolestuttavaa on kyllä myös positiivisten tulosten kokonaismäärä aikaisempien tutkimusten tutkimuksissa. WHO tekee yleiset määritykset ja testit pikatestien luotettavuudesta. Suomessa olisi kuitenkin hyvä laaja tehdä tutkimus suurella positiivisten eritasoisten näytteiden määrällä ja varsinkin Cutoff-rajalla olevien. Vertailuna voisi olla useampi referenssimenetelmä.

Työssämme reaktiivisia näytteitä oli paljon, joten prevalenssi oli todella suuri. Koska prevalenssi kuvaa sairaiden määrää koko väestöstä (positiivisten tulosten määrää testatuista), niin positiivisen ennustearvon tulee olla korkea. Determine-testillä oli tämä arvo 100 %, joten toteamme Determine-testin olevan muita testejä luotettavampi myös tässä sairauden luotettavasti todentavassa arvossa.

Pikatestit olisivat kehitysmaolosuhteissa hyvä testimenetelmä, koska siellä ei ole teknologia tarpeeksi kehittynyttä. Välimatkat ovat pitkät ja testattujen on vaikea tulla kuulemaan toisena päivänä testituloksiaan. Korkean HIV-prevalenssin eli esiintyvyyden vuoksi olisi tärkeää saada tutkimus lähelle testattavia, jotta mahdollisimman moni tulisi testatuksi. Suomessa pikatestien laajempi käyttöönotto ei ole mielestämme tarpeellista, sillä logistiikka toimii hyvin ja näytteiden säilytysolosuhteet ovat hyvät. Pikatestejä ei tulisi mielestämme tulevaisuudessa myydä esim. apteekeissa, sillä testien tekemisessä voisi sattua virheitä ja tulosten tulkinta ei ole aina niin yksinkertaista. Väärä tulos voi aiheuttaa kohtalokkaita seurauksia.

Kirjallisuudesta saatujen tietojen perusteella pikatestit soveltuvat seulontatyypiseen testaukseen, josta esimerkkinä on mm. Suomessa vankilaolosuhteissa tehtävät määritykset. Sen sijaan omien tulostemme mukaan pikatestit eivät sovellu diagnostiseen tai poissulkutestaukseen esimerkiksi poliklinikoilla. Myöskään AIDS-tukikeskuksissa tehtävää pikatesteihin perustuvaa diagnostiikkaa ei voi pitää kaikilta osin suositeltavana.

Toivottavasti pikatestit eivät kuitenkaan tule yleiseksi käsikauppatavaraksi ainakaan testaamiemme pikatestien menetelmäperiaatteilla. Toisaalta kotitesteillä positiivisen tuloksen saaneet tai sitä epäilevät henkilöt saattaisivat tulla nykyistä enemmän pyytämään terveystieteistä uutta HIV-testiä.

Saavutimme mielestämme työn sisällölliset tavoitteet hyvin, ja onnistuimme rajaamaan turhan, vaikkakin mielenkiintoisen HIV-tiedon työstämme pois. Olemme tyytyväisiä työmme tuloksiin. Tarkoituksenamme oli välittää lukijalle keskeiset tiedot mahdollisimman havainnollisessa muodossa. Useat kuviot ja taulukot selventävät lukijalle tekstimme sisältöä. Uskomme työmme herättävän kiinnostusta pikatesteihin varsinkin näiden tuoreiden infektioiden tulosten perusteella. Testien suorittaminen onnistui hyvin. Pidämme valitsemaamme lähdeaineistoa luotettavana.

Työssämme käytetty näytemäärä on hyvin pieni, joten tuloksien perusteella ei voisi tehdä suuria johtopäätöksiä. Mutta jos ottaa huomioon testattujen positiivisten ja raja-arvoisten näytteiden suuren määrän uskomme sen antavan kuitenkin paljon suuntaa pikatestien luotettavuudesta. Tutkimuksemme tuloksista näkisimme viitteitä siihen, että ainakaan nämä testaamamme pikatestit eivät yksistään ole riittävän luotettavia yleiseen käyttöön HIV-diagnosoinnissa HIV-tartunnan vakavuutta ajatellen.

Tietojen muokkaaminen ja taulukointi oli odotettua työläämpää ja monimutkaisempaa, kuin osasimme etukäteen odottaa, koska emme ole aikaisemmin tehneet näin laajaa tutkimusta. Lisäksi työssämme käsiteltävät useat muuttujat hankaloittivat tulosten käsittelyä. Opinnäytetyön tulosten käsittely oli kuitenkin oppimista parhaimmillaan.

Lähtökohtana opinnäytetyössämme oli pikatestien ja rutiininmenetelmien tulosten vertaus. Päätimme tehdä opinnäytetyömme tästä aiheesta, koska aihe oli kiinnostava ja ajankohtainen. Työtä tehdessä tietomme HI-viruksesta lisääntyi ja saimme kokemusta tutkimustyöstä. Harjaannuimme myös tilasto-ohjelmien käsittelyssä. Tulevaisuudessa tulemme varmasti tarvitsemaan tilasto-ohjelmia. Opinnäytetyön tekeminen oli mielenkiintoista ja lisäksi se edisti oppimistamme ja ammatillista kasvuamme. Työmme kautta ilmenee testauksen merkitys nykyaikana

Pikatestien tekeminen sopii opinnäytetyöksi hyvin, koska niillä saadaan paljon tuloksia lyhyessä ajassa. Rinnakkaisten testien tekeminen olisi ollut kiinnostavaa joidenkin näytteiden osalta. Tuoreiden infektioiden ja väärin reaktiivisten ryhmässä voisivat rinnakkaiset tulokset antaa lisätietoa. Jatkotutkimuksia työhöme liittyen voisi olla tuoreiden infektioiden näytteiden testaaminen suuremmalla näyteryhmällä ja useamman tekijän toimesta. Opinnäytetyömme sisältö voisi olla pohjana HIV-pikatestejä käyttäviin laboratorioihin suunnatuissa kyselytutkimuksissa.

11 LÄHTEET

- Abbott 2003. Determine® HIV-1/2. Package insert instruction. Germany.
- Arpo, Leena 1999. HIV-pikatestit käyttöön vankiloissa. Kansanterveyslaitoksen tiedotuslehti.
- Bjålie, Jan – G. Haug, Egil – Sand, Olav – Sjaastad, Kari C 1999: Ihminen fysiologia ja anatomia. Porvoo:WSOY.
- Centers for Disease Control CDC. 2003. Advancing HIV Prevention: New Strategies for a Changing Epidemic - United States, 2003. Verkkodokumentti. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR).
<<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5215a1.htm>>. Luettu 3.3.2007.
- CORE Diagnostics 2006a. Core® HIV 1&2. Consult instructions for use. United Kingdom.
- CORE Diagnostics 2006b. Immunoflow® HIV1-HIV2. Consult instructions for use. United Kingdom.
- Duodecim 2002: Lääketieteen termit. 4. uudistettu painos. Gummerus kirjapaino Oy. Jyväskylä.
- Elintarvikevirasto ja Eläinlääkintä- ja elintarvikelaitos (EELA nykyisin EVIRA) 1997. Valvonta, mikrobiologisten menetelmien validointiohje. Verkkodokumentti.
<http://www.palvelu.fi/evi/files/55_519_205.pdf>. Luettu 11.4.2007.
- Finnish Accreditation Service FINAS. FINAS-akkreditointipalvelu. Verkkodokumentti.
<<http://www.mikes.fi/frameset.aspx?url=finas.aspx%3fcategoryID=2&langID=fi>>. Luettu 5.4.2007.
- Finnish Accreditation Service FINAS 2007. Akkreditoitu testauslaboratorio. Verkkodokumentti. <http://www.mikes.fi/Scopes/T200_M06_2007.htm>. Luettu 5.4.2007.
- Helsingin yliopisto kansanterveystieteen laitos. Sanasto. Verkkodokumentti.
<<http://www.kttl.helsinki.fi/sarna/sanasto.pdf>>. Luettu 11.4.2007.
- Helsingin yliopisto (MIKES TTK mittaustekniikka) 2005. Mittaustekniikan perusteet luento 7. Verkkodokumentti.
<http://metrology.hut.fi/courses/S108.1010/Luento7_2005.pdf>. Luettu 11.4.2007.
- HIV-säätiö/ AIDS-tukikeskus 2007. Toimintasuunnitelma 2007. Päivitetty 30.11.2006.
<http://www.aidstukikeskus.fi/sivut/media/toimintasuunnitelma_2007.pdf>. Luettu 10.1.2007

- Huovinen, Pentti – Meri, Seppo – Peltola, Heikki – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville 2003: Mikrobiologia ja infektiosairaudet. 2. painos. Jyväskylä: Gummerus kirjapaino Oy
- Huovinen, Pentti – Meri, Seppo – Peltola, Heikki – Vaara, Martti – Vaheri, Antti – Valtonen, Ville 2005: Mikrobiologia ja infektiosairaudet. 1. painoksen muuttamaton jatkopainos. Jyväskylä: Gummerus kirjapaino Oy
- HUSLAB 2006a. HIV p24-antigeeni. Menetelmäohje.
- HUSLAB 2006b. HIV-vasta-aineet. Menetelmäohje.
- Janeway, Charles – Travers, Paul – Walport, Mark – Capra, J.Donald 1999: Immunobiology, The immune system in health and disease. 4. painos. New York: Elsevier Science Ltd/Garland Publishing
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS UNAIDS, World Health Organization WHO 2004. HIV Assays: Operational Characteristics report. Verkkodokumentti.
<http://www.who.int/diagnostics_laboratory/publications/hiv_assays_rep_14.pdf>. Luettu 12.2.2007.
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS UNAIDS, World Health Organization WHO 2006. Epidemic update December 2006. Verkkodokumentti.
<http://data.unaids.org/pub/EpiReport/2006/2006_EpiUpdate_en.pdf>. Luettu 14.2.2007.
- Kansanterveyslaitos KTL. 2004. Molekyyli-epidemiologia (HIV/AIDS tutkimus). Verkkodokumentti. Päivitetty 5.2.2004.
<http://www.ktl.fi/portal/suomi/osastot/infe/yksikot/hiv-yksikko/hiv_aids_tutkimus/molekyyli-epidemiologia/>. Luettu 9.1.2007.
- Kansanterveyslaitos KTL 2007a. HIV-diagnostiikka Kansanterveyslaitoksessa. Verkkodokumentti. Päivitetty 12.2.2007.
<http://www.ktl.fi/portal/suomi/osiot/terveyden_ammattilaisille/palvelut/hiv-diagnostiikka/>. Luettu 4.4.2005.
- Kansanterveyslaitos KTL 2007b. Infektioepidemiologian osasto. HIV Suomessa, kaikki tapaukset. Verkkodokumentti. Päivitetty 2.4.2007.
<<http://www.ktl.fi/attachments/hivsuo.pdf>>. Luettu 11.4.2007.
- Kansanterveyslaitos KTL 2007c. Infektioepidemiologian osasto. HIV-tartunnan saaneiden kuolemat Suomessa. Verkkodokumentti. Päivitetty 2.4.2007.
<<http://www.ktl.fi/attachments/hivaidskuo.pdf>>. Luettu 11.4.2007.
- Koljonen, Pauliina – Lindqvist, Annika 2007. HIV-pikatestien testaus ja tulosten vertaaminen rutiinidiagnostiikan tuloksiin -opinnäytetyökuvia. HUSLAB, virologian osasto.
- Kuby, Janis 1997: Immunology. 3. uudistettu painos. USA: W. H. Freeman and Company.

- Kuluttajavirasto. CE-merkintä. Verkkodokumentti.
http://www.kuluttajavirasto.fi/user_nf/de-fault.asp?site=34&tmf=6475&lmf=6511&id=8159&mode=readdoc>. Luettu 7.3.2007.
- Leinikki, Pauli – Löytönen, Markku (toim.) 1993: Kaikki Aidsista. Porvoo: WSOY:n graafiset laitokset. 35–38.
- Leinikki, Pauli 1998: Hiv-pikatestit voivat sittenkin olla hyödyllisiä. Kansanterveyslaitoksen tiedotuslehti. 8-12.
- Leinikki, Pauli 1999: Hiv-pikatestien käytöstä suositus. Kansanterveys. Kansanterveyslaitoksen tiedotuslehti.
- Positiiviset.fi. Käsikirja HIV-positiivisille.
<http://www.positiiviset.fi/kasikirja/sanasto.shtml>>. Luettu 17.3.2007.
- Reunala, Timo – Paavonen, Jorma – Rostila, Timo 1994: Sukupuolitaudit. 1. painos. Jyväskylä: Gummerus kirjapaino Oy
- Rintala, Esa – Sutinen, Jussi 2005: HIV-testaus – miksi, milloin ja miten. Suomen Lääkärilehti (48). 4977–4984.
- Ryynänen, Olli-Pekka 1997. Positiivinen ennustearvo – unohdettu voimatekijä. FINOHTA TA info 5/97. Verkkodokumentti.
http://finohta.stakes.fi/NR/rdonlyres/B38D6875-A527-4DCC-8CD4-EDE3AC4BAEC0/0/1997_TAinfo_5.pdf>. Luettu 3.4.2007.
- Savolainen, Tarja 2007. Osastonhoitaja. Mehiläinen. Helsinki. Suullinen tiedonanto 29.3.2007.
- Sinervo, Tuija 2005. Standardien SFS-EN ISO 15189 ja SFS-EN ISO/IEC 17025 erot. Verkkodokumentti. Päivitetty 27.1.2005.
http://www.mikes.fi/documents/upload/sinervo_tuija.pdf>. Luettu 10.4.2007.
- Stevens, Christine 2003. Clinical immunology and serology: a laboratory perspective. Philadelphia: F.A. Davis Company.
- Suni, Jukka 2007. Asiantuntijalääkäri. HUSLAB, virologian osasto. Helsinki. Suullinen tiedonanto 22.3.2007.
- Syrjänen, Jaana – Ristola, Matti 2005: HIV-infektion nykyhoito. Suomen Lääkärilehti. 4987.
- Teknologian kehittämiskeskus TEKES 2005. Magnasense Oy: Pikatestien lukulaitteella maailmalle. Verkkodokumentti. Päivitetty 11.11.2005.
http://www.tekes.fi/ajankohtaista/asiakkaiden_tuloksia/menestystarina_tiedot.asp?id=4774>. Luettu 1.4.2007.

Vankeinhoitolaitos. Tartuntatautien vastustaminen. Verkkodokumentti.
<<http://www.vankeinhoito.fi/16777.htm>>. Luettu 7.3.2007.

Venäjän federaation suurlähetystö suomessa. Viisumiasiat. Verkkodokumentti.
<<http://www.rusembassy.fi/SuomVisaInf.htm>>. Luettu 7.4.2007

Weber, Teddy 1998: Vieritestitutkimukset. Moodi (2). 55.

World Health Organization WHO 1998. Weekly epidemiological record, No 42.
Verkkodokumentti. Päivitetty 16.10.1998.
<<http://www.who.int/docstore/wer/pdf/1998/wer7342.pdf>>. Luettu 2.4.2007.

World Health Organization WHO 2004. Rapid HIV-tests: Guidelines for Use in HIV
Testing and Counselling Services in Resource-Constrained Settings
Verkkodokumentti. <<http://www.unicef.org/aids/files/rapidhivtestsens.pdf>>.
Luettu 15.3.2007.

World Health Organization WHO 2005. GUIDELINES for Assuring the Accuracy and
Reliability of HIV RAPID TESTING: Applying a Quality System Approach.
Verkkodokumentti.
<http://www.who.int/diagnostics_laboratory/publications/HIVRapidsGuide.pdf
>. Luettu 11.4.2007.

TULOKSET NÄYTERYHMÄSTÄ A (VAHVAT POSITIIVISET)

| Näyte | Determine | Core | Immunoflow | Rutiini | Ab (S/CO) |
|-------|-----------|------|------------|---------|-----------|
| 1 | + | + | + | + | 11,8 |
| 2 | + | + | + | + | 15,5 |
| 3 | + | + | + | + | 17,8 |
| 4 | + | + | + | + | 19,0 |
| 5 | + | + | + | + | 19,3 |
| 6 | + | + | + | + | 19,7 |
| 7 | + | + | + | + | 21,0 |
| 8 | + | + | + | + | 22,1 |
| 9 | + | + | + | + | 24,3 |
| 10 | + | + | + | + | 25,2 |
| 11 | + | + | + | + | 25,2 |
| 12 | + | + | + | + | 25,7 |
| 13 | + | + | + | + | 27,9 |
| 14 | + | + | + | + | 28,0 |
| 15 | + | + | + | + | 29,0 |
| 16 | + | + | + | + | 29,9 |
| 17 | + | + | + | + | 33,1 |
| 18 | + | + | + | + | 33,2 |
| 19 | + | + | + | + | 36,1 |
| 20 | + | + | + | + | 37,6 |

| <i>Yhteenveto A-näyteryhmän tuloksista</i> | <i>Näytteet (n=60)</i> | <i>%</i> |
|--|------------------------|--------------|
| Hyväksytyt testit | 60 | 100,0 |
| Pikatestien oikeat positiiviset (OP) | 60 | 100,0 |
| Pikatestien väärät negatiiviset (VN) | 0 | 0,0 |
| Testien sensitiivisyys ryhmässä A (%)** | | 100,0 |

* Ab (S/CO) tarkoittaa HUSLABin rutiinimenetelmällä saatuja HIV-vasta-ainetuloksia.

** Sensitiivisyys on laskettu kaavalla $(OP / (OP + VN)) * 100$

TULOKSET NÄYTERYHMÄSTÄ B (TUOREET INFEKTIOT)

| Näyte | Determine | Core | Immunoflow | Rutiini | Ab (S/CO) * |
|-------|-----------|------|------------|---------|-------------|
| 21 | — | — | — | + | 0,3 |
| 22 | — | — | — | + | 0,4 |
| 23 | — | — | — | + | 0,4 |
| 24 | — | — | — | + | 0,4 |
| 25 | — | — | — | + | 0,4 |
| 26 | — | — | — | + | 0,5 |
| 27 | + | — | — | + | 0,5 |
| 28 | — | — | — | + | 1,2 |
| 29 | — | — | 0 | + | 1,5 |
| 30 | — | — | 0 | + | 2,6 |
| 31 | + | 0 | + | + | 3,4 |
| 32 | + | 0 | + | + | 7,8 |
| 33 | + | 0 | + | + | 10,3 |
| 34 | + | — | + | + | 13,3 |
| 35 | + | + | + | + | 14,3 |
| 36 | + | + | + | + | 16,8 |
| 37 | + | + | + | + | 17,8 |
| 38 | + | + | + | + | 18,5 |
| 39 | + | + | + | + | 24,5 |
| 40 | + | + | + | + | 24,6 |

| <i>Yhteenveto B-näyteryhmän tuloksista</i> | <i>Näytteet (n=60)</i> | <i>%</i> |
|--|------------------------|-------------|
| Hyväksytyt testit | 55 | 100,0 |
| Pikatestien oikeat positiiviset (OP) | 27 | 49,1 |
| Pikatestien väärät negatiiviset (VN) | 28 | 50,9 |
| Testien sensitiivisyys ryhmässä B (%)** | | 49,1 |

| <i>Epäselvät tulokset (0)</i> | <i>Lukuaika (15min / 30min)***</i> |
|-------------------------------|------------------------------------|
| Core 31 | (- / +) (- / +) |
| Core 32 | (- / +) (- / +) |
| Core 33 | (- / +) (+ / +) |
| Immunoflow 29 | (- / +) (- / +) |
| Immunoflow 30 | (- / +) (+ / +) |

* Ab (S/CO) tarkoittaa HUSLABin rutiinimenetelmällä saatuja HIV-vasta-ainetuloksia.

** Sensitiivisyys on laskettu kaavalla $(OP / (OP + VN)) * 100$

*** Sulkeissa oleva tulos kertoo hokijan saaman pikatestituloksen eri lukuaikoina. Kahdet sulkeet kertovat kahden hokijan saamista tuloksista.

TULOKSET NÄYTERYHMÄSTÄ C (VÄÄRIN REAKTIIVISET)

| Näyte | Determine | Core | Immunoflow | Rutiini | Ab (S/CO)* |
|-------|-----------|------|------------|---------|------------|
| 41 | — | — | — | — | 0,4 |
| 42 | — | — | — | — | - |
| 43 | — | — | — | — | 0,4 |
| 44 | — | — | — | — | - |
| 45 | — | — | — | — | 0,4 |
| 46 | 0 | 0 | 0 | — | 0,9 |
| 47 | — | — | — | — | 1,0 |
| 48 | — | — | 0 | — | 1,0 |
| 49 | — | — | — | — | 1,3 |
| 50 | + | — | — | — | 1,5 |
| 51 | — | — | — | — | 1,6 |
| 52 | — | — | + | — | 2,1 |
| 53 | — | — | — | — | 2,8 |
| 54 | + | 0 | + | — | 5,1 |
| 55 | + | — | — | — | 5,3 |
| 56 | + | — | — | — | 5,9 |
| 57 | + | — | + | — | 9,9 |
| 58 | — | — | — | — | 10,1 |
| 59 | + | — | — | — | 10,8 |
| 60 | — | — | — | — | 12,6 |

| <i>Yhteenveto C-näyteryhmän tuloksista</i> | <i>Näytteet (n=60)</i> | <i>%</i> |
|---|------------------------|-------------|
| Hyväksytyt testit | 55 | 100,0 |
| Pikatestien väärät positiiviset (VP) | 9 | 16,4 |
| Pikatestien oikeat negatiiviset (ON) | 46 | 83,6 |
| Testien spesifisyys ryhmässä C (%)** | | 83,6 |

| <i>Epäselvät tulokset (0)</i> | <i>Lukuaika (15min / 60min)***</i> |
|-------------------------------|------------------------------------|
| Determine 46 | (+ / -)(+ / -) |
| | <i>Lukuaika (15min / 30min)</i> |
| Core 46 | (- / +) (+ / +) |
| Core 54 | Ei kontrollia |
| Immunoflow 46 | (- / +) (- / +) |
| Immunoflow 48 | (- / +) (+ / +) |

* Ab (S/CO) tarkoittaa HUSLABin rutiinimenetelmällä saatuja HIV-vasta-ainetuloksia.

** Spesifisyys on laskettu kaavalla $(ON / (ON + VP)) * 100$

*** Sulkeissa oleva tulos kertoo hikiän saaman pikatestituloksen eri lukuaikoina. Kahdet sulkeet kertovat kahden hikiän saamista tuloksista.

TULOKSET NÄYTERYHMÄSTÄ D (NEGATIIVISET)

| Näyte | Determine | Core | Immunoflow | Rutiini |
|-------|-----------|------|------------|---------|
| 61 | – | – | – | – |
| 62 | – | – | – | – |
| 63 | – | – | – | – |
| 64 | – | – | – | – |
| 65 | – | – | + | – |
| 66 | – | – | – | – |
| 67 | – | – | – | – |
| 68 | – | – | – | – |
| 69 | – | – | – | – |
| 70 | – | – | – | – |
| 71 | – | – | – | – |
| 72 | – | – | – | – |
| 73 | – | – | – | – |
| 74 | – | – | – | – |
| 75 | – | – | – | – |
| 76 | – | – | – | – |
| 77 | – | – | – | – |
| 78 | – | – | – | – |
| 79 | – | – | – | – |
| 80 | – | – | + | – |
| 81 | – | – | – | – |
| 82 | – | – | – | – |
| 83 | – | – | – | – |
| 84 | – | – | – | – |
| 85 | – | – | – | – |
| 86 | – | + | – | – |
| 87 | – | – | – | – |
| 88 | – | – | – | – |
| 89 | – | – | – | – |
| 90 | – | – | – | – |
| 91 | – | – | – | – |
| 92 | – | – | – | – |
| 93 | – | – | – | – |
| 94 | – | – | – | – |
| 95 | – | – | – | – |
| 96 | – | – | – | – |
| 97 | – | – | – | – |
| 98 | – | – | – | – |
| 99 | – | – | – | – |
| 100 | – | – | – | – |

| <i>Yhteenveto D-näyteryhmän tuloksista</i> | <i>Näytteet (n=120)</i> | <i>%</i> |
|---|-------------------------|-------------|
| Hyväksytyt testit | 120 | 100,0 |
| Pikatestien väärät positiiviset (VP) | 3 | 2,5 |
| Pikatestien oikeat negatiiviset (ON) | 117 | 97,5 |
| Testien spesifisyys ryhmässä D (%)** | | 97,5 |

* Spesifisyys on laskettu kaavalla $(ON / (ON + VP)) * 100$

YHTEENVETO JA TILASTOLLISET LASKUT PIKATESTIEN TULOKSISTA

Ryhmien A - D yhteistulokset (N=300)

| | Determine | % | Core | % | Immunoflow | % |
|--|-----------|-------------|------|-------------|------------|-------------|
| Hyväksytyt testit | 99 | 100,0 | 95 | 100,0 | 96 | 100,0 |
| Hyväksytyjen testien positiiviset | 40 | 40,4 | 37 | 38,9 | 38 | 39,6 |
| Oikeat positiiviset (OP) | 31 | 31,3 | 26 | 27,4 | 30 | 31,3 |
| Väärät positiiviset (VP) | 6 | 6,1 | 1 | 1,1 | 5 | 5,2 |
| Testin havaitsemat positiiviset yhteensä | 37 | 37,4 | 27 | 28,4 | 35 | 36,5 |
| Hyväksytyjen testien negatiiviset | 59 | 59,6 | 58 | 61,1 | 58 | 60,4 |
| Oikeat negatiiviset (ON) | 53 | 53,5 | 57 | 60,0 | 53 | 55,2 |
| Väärät negatiiviset (VN) | 9 | 9,1 | 11 | 11,6 | 8 | 8,3 |
| Testin havaitsemat negatiiviset yhteensä | 62 | 62,6 | 68 | 71,6 | 61 | 63,5 |
| Testin sensitiivisyys | | 77,5 | | 70,3 | | 78,9 |
| Spesifisyys | | 89,8 | | 98,3 | | 91,4 |
| Ennustettavat positiiviset tulokset | | 83,8 | | 96,3 | | 85,7 |

Ryhmien A, B ja D yhteistulokset (N=240)

| | Determine | % | Core | % | Immunoflow | % |
|--|-----------|--------------|------|-------------|------------|-------------|
| Hyväksytyt testit | 80 | 100,0 | 77 | 100,0 | 78 | 100,0 |
| Hyväksytyjen testien positiiviset | 40 | 50,0 | 37 | 48,1 | 38 | 48,7 |
| Oikeat positiiviset (OP) | 31 | 38,8 | 26 | 33,8 | 30 | 38,5 |
| Väärät positiiviset (VP) | 0 | 0,0 | 1 | 1,3 | 2 | 2,6 |
| Testin havaitsemat positiiviset yhteensä | 31 | 38,8 | 27 | 35,1 | 32 | 41,0 |
| Hyväksytyjen testien negatiiviset | 40 | 50,0 | 40 | 51,9 | 40 | 51,3 |
| Oikeat negatiiviset (ON) | 40 | 50,0 | 39 | 50,6 | 38 | 48,7 |
| Väärät negatiiviset (VN) | 9 | 11,3 | 11 | 14,3 | 8 | 10,3 |
| Testin havaitsemat negatiiviset yhteensä | 49 | 61,3 | 50 | 64,9 | 46 | 59,0 |
| Testin sensitiivisyys | | 77,5 | | 70,3 | | 78,9 |
| Spesifisyys | | 100,0 | | 97,5 | | 95,0 |
| Ennustettavat positiiviset tulokset | | 100,0 | | 96,3 | | 93,8 |

Ryhmien A ja D yhteistulokset (N=180)

| | Determine | % | Core | % | Immunoflow | % |
|--|-----------|--------------|------|--------------|------------|--------------|
| Hyväksytyt testit | 60 | 100,0 | 60 | 100,0 | 60 | 100,0 |
| Hyväksytyjen testien positiiviset | 20 | 33,3 | 20 | 33,3 | 20 | 33,3 |
| Oikeat positiiviset (OP) | 20 | 33,3 | 20 | 33,3 | 20 | 33,3 |
| Väärät positiiviset (VP) | 0 | 0,0 | 1 | 1,7 | 2 | 3,3 |
| Testin havaitsemat positiiviset yhteensä | 20 | 33,3 | 21 | 35,0 | 22 | 36,7 |
| Hyväksytyjen testien negatiiviset | 40 | 66,7 | 40 | 66,7 | 40 | 66,7 |
| Oikeat negatiiviset (ON) | 40 | 66,7 | 39 | 65,0 | 38 | 63,3 |
| Väärät negatiiviset (VN) | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| Testin havaitsemat negatiiviset yhteensä | 40 | 66,7 | 39 | 65,0 | 38 | 63,3 |
| Testin sensitiivisyys | | 100,0 | | 100,0 | | 100,0 |
| Spesifisyys | | 100,0 | | 97,5 | | 95,0 |
| Ennustettavat positiiviset tulokset | | 100,0 | | 95,2 | | 90,9 |

* Tilastolliset laskut liitteessä 6.

TILASTOLLISET LASKUT

Sensitiivisyys $(OP / (OP + VN)) * 100$

(Oikeat positiiviset / (Oikeat positiiviset + Väärät negatiiviset)) *100

Spesifisyys $(ON / (ON + VP)) * 100$

(Oikeat negatiiviset / (Oikeat negatiiviset + Väärät positiiviset)) *100

Ennustettavat positiiviset tulokset $(OP / (OP + VP)) * 100$

Oikeat positiiviset / (Oikeat positiiviset + Väärät positiiviset)) *100

Keskihajonta

Keskihajonta (standard deviation) on hajontaluku välimatka- tai suhdeasteikon muuttujille. Keskihajonta on ehkä kaikkein yleisimmin käytetty hajontaluku. Keskihajonta kuvaa sitä, kuinka kaukana yksittäiset muuttujan arvot ovat keskimäärin muuttujan aritmeettisesta keskiarvosta. Keskihajonta (s) lasketaan kaavasta

$$s = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Kaavassa x_i viittaa i:nneen havainnon arvoon ja \bar{x}

tarkoittaa aineiston aritmeettista keskiarvoa. Sigma -merkki Σ

tarkoittaa yhteenlaskua. Esitetyssä kaavassa lasketaan jokaisen havainnon arvon erotus koko aineiston keskiarvosta. Tämän jälkeen erotus korotetaan neliöön. Tämän jälkeen kaikki saadut arvot lasketaan yhteen. Tämä saatu summa jaetaan havaintojen määrällä (n) ja saadusta tuloksesta otetaan vielä neliöjuuri keskihajonnan saamiseksi. Mitä suurempi saatu arvo on, sitä enemmän muuttujan arvoissa on hajontaa ja päinvastoin.

Edellä mainittu keskihajonnan kaava on tarkoitettu tilanteisiin, jossa on tarkasteltavana koko perusjoukko. Jos kyse on otoksesta käytetään usein termiä otoskeskihajonta ja silloin täytyy käyttää hieman erilaista kaavaa. Tällöin kaava on

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Tässä kaavassa jakajana on havaintojen määrä vähennettynä yhdellä. Etenkin suurissa aineistoissa ero näiden kahden kaavan antamilla keskihajontaluvuilla on pieni.

YHTEENVETO PIKATESTIEN TILASTOLLISISTA TULOKSISTA

Taulukko ja graafi kuvaavat sensitiivisyyden, spesifisyyden ja ennustettavien positiivisten tulosten arvojen (%) eroja, kun niiden laskemisessa on huomioitu eri näyteryhmiä A-D. Tuloksista on laskettu lisäksi keskiarvo (KA) ja keskihajonta (STD).

| | Näyteryhmät | Determine | Core | Immunoflow |
|--|-------------|-----------|-------|------------|
| Sensitiivisyys (%) | A,B,C,D | 77,5 | 70,3 | 78,9 |
| | A,B,D | 77,5 | 70,3 | 78,9 |
| | A,D | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| | KA | 85,0 | 80,2 | 85,9 |
| | STD | 13,0 | 17,1 | 12,2 |
| Spesifisyys (%) | A,B,C,D | 89,8 | 98,3 | 91,4 |
| | A,B,D | 100,0 | 97,5 | 95,0 |
| | A,D | 100,0 | 97,5 | 95,0 |
| | KA | 96,6 | 97,8 | 93,8 |
| | STD | 5,9 | 0,5 | 2,1 |
| Ennustettavat positiiviset tulokset (%) | A,B,C,D | 83,8 | 96,3 | 85,7 |
| | A,B,D | 100,0 | 96,3 | 93,8 |
| | A,D | 100,0 | 95,2 | 90,9 |
| | KA | 94,6 | 95,9 | 90,1 |
| | STD | 9,4 | 0,6 | 4,1 |

